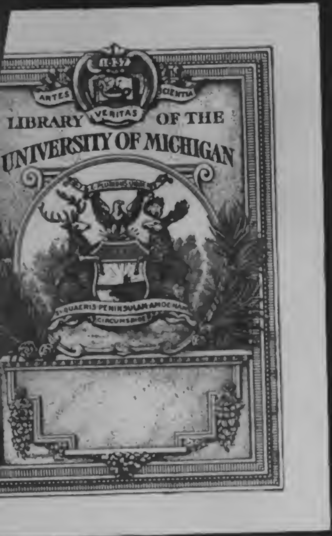
Digitized by Google



Digitized by Google

Digitized by Google

616.07
N48
1910

Analyse des Harns.

Zum Gebrauch für

Mediziner, Chemiker und Pharmazeuten

zugleich

Elfte Auflage von Neubauer-Huppert's Lehrbuch.

Bearbeitet von

A. Ellinger-Königsberg, **H. Eppinger**-Wien, † **F. Falk**-Wien, **F. N. Schulz**-Jena,
K. Spiro-Strassburg und **W. Wiechowski**-Wien.

Digitized by Google

Analyse des Harns.

Zum Gebrauch für

Mediziner, Chemiker und Pharmazeuten

zugleich

Elfte Auflage von Neubauer-Huppert's Lehrbuch.

Bearbeitet von

A. Ellinger-Königsberg, **H. Eppinger**-Wien, † **F. Falk**-Wien, **F. N. Schulz**-Jena, **K. Spiro**-Strassburg i. E. und **W. Wiechowski**-Wien.

Zweite Hälfte.

Mit Textabbildungen, 6 lithographischen Tafeln und einer Logarithmentafel.

Wiesbaden.
C. W. Kreidels Verlag.
1913.

Digitized by Google

Nachdruck verboten.
Das Recht der Übersetzung in allen Sprachen vorbehalten.
Copyright 1913 by C. W. Kreidels Verlag.

Druck der Königl. Universitätsdruckerei H. Stürtz A. G., Würzburg.

Digitized by Google

Vorwort.

Indem wir die zweite Hälfte gemeinsamer Arbeit hinausgehen lassen, gedenken wir mit Wehmut und Trauer unseres gemeinsamen Freundes und Mitarbeiters,

Dr. Fritz Falk.

Was die Wissenschaft an ihm verloren hat, wird auch sein folgender Beitrag zeigen: Vielseitiges Wissen und umfassende Belesenheit, gediegenes Können und kritisches Urteil. Es ist doppelt tragisch, dass gerade der jüngste von uns die Vollendung des gemeinsamen Werkes nicht erleben durfte, dessen Anfänge er mit freudigem Enthusiasmus zu fördern suchte. Treue Freundeshand hat im Sinne des Verstorbenen diese seine letzte Arbeit zu Ende geführt.

Wenn aus diesen und anderen Gründen die zweite Hälfte so spät nach der ersten erscheinen musste, so hat sich dies jeder von uns zunutze gemacht, und man wird finden, dass wir nicht nur Literatur zusammengetragen haben, sondern aus eigenem zu geben suchten und dass auch der vorliegende Teil neben der abwägenden und auswählenden Kritik eine Fülle neuer unveröffentlichter Beobachtungen enthält, wie es der Tradition dieses Buches entspricht.

So hoffen wir, dass auch der Schluss des Werkes des einmütigen und anspornenden Lobes nicht unwürdig sein möge, den der erste Teil geerntet hat und für den auch an dieser Stelle zu danken uns Bedürfnis ist.

Januar 1913.

**Ellinger, Eppinger, Henderson, Schulz,
Spiro, Wiechowski.**

284599

Digitized by Google

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Stickstoffhaltige Verbindungen. (Fortsetzung) von A. Ellinger-Königsberg i. Pr. 683

Diamine. Von A. Ellinger-Königsberg i. Pr. 683
Vorkommen 683
I. Putrescin 685
II. Cadaverin 688
Darstellung und Nachweis 691

Basen bekannter Konstitution, die im normalen Harn in geringen Mengen vorkommen 694
I. Methylguanidin 694
Vorkommen 694
Eigenschaften 695
Darstellung und Nachweis 698
II. Dimethylguanidin 700
Vorkommen, Eigenschaften 700
Darstellung 701
III. Pyridylmethylammoniumhydroxyd 702
Vorkommen 702
Eigenschaften 703
Darstellung 704
IV. 4-Methylpyridin 705
Vorkommen 705
Eigenschaften, Darstellung 706

Aus normalem Harn isolierte Basen von unbekannter Konstitution 707
I. Substanz von Baumstark 707
II. Substanz von Meissner 708
III. Verbindung von Pouchet 708
IV. Die Base $C_7H_{15}NO_2$ (bzw. $C_7H_{17}NO_2$) Dombrowski, Kutscher und Lohmann 709
Anhang. Die Abspaltung von Trimethylamin aus Harn 712
1. Nachweis von Trimethylamin nach Takeda 713
2. Bestimmung des mit Alkalien aus dem Harn abspaltbaren Trimethylamins nach de Filippi 714
V. Gynesin 716
VI. Mingin 717
VII. Kynosin 717
VIII. Protaminähnliche Verbindung von Engeland 718

Basen aus dem Harn mit Phosphor vergifteter Hunde 718
I. γ-n-Butyrobetain 718
Vorkommen, Eigenschaften 719
Darstellung 720
II. Die Base $C_{13}H_{26}N_2O_3$ (Takeda) 721
III. Die Base $C_{13}H_{26}N_2O_5$ (Takeda) 721

Digitized by Google

Seite

Sonstige Versuche zum Nachweis und zur Isolierung giftiger Bestandteile aus normalen und pathologischen Harnen (Ptomaine) 722
Vorkommen 722
Beschreibung einzelner Darstellungsversuche 729
a) Substanzen kolloidalen Charakters 729
b) Substanzen von Alkaloid-Charakter 734
Darstellung und Nachweis 743

Schwefelhaltige Verbindungen der aliphatischen Reihe. Von **A. Ellinger**-Königsberg i. Pr. 746
I. Rhodanwasserstoff 746
Vorkommen 746
Eigenschaften 748
Nachweis und Isolierung 751
Bestimmung des Rhodanss 753
a) Als Silberverbindung, b) Kolorimetrisch 753
c) Jodometrisch 754
II. Methylmercaptan 756
Vorkommen 756
Eigenschaften 757
Nachweis 758
III. Äthylsulfid 759
Vorkommen 759
Eigenschaften 760
Darstellung, Nachweis 762
IV. Diäthylmethylsulfiniumbase 763

Aromatische Verbindungen. Von **A. Ellinger**-Königsberg i. Pr. . . 764
Phenole 764
I. Phenol 765
Vorkommen 765
Eigenschaften 767
Nachweis, Bestimmung 773
Anhang 774
1. Phenolschwefelsäure 774
2. Phenolglycuronsäure 775
Vorkommen, Eigenschaften, Darstellung 776
Nachweis 777
II. Kresol 777
Vorkommen 777
Eigenschaften 778
Nachweis 780
Darstellung 781
Anhang 781
1. p-Kresolschwefelsäure 781
2. p-Kresolglycuronsäure 782
3. Urogon (Mooser) 783
Bestimmung des Phenols und Kresols 784
1. Gemeinsame Bestimmung des Phenols und p-Kresols . . 784
a) Methode von Messinger und Vortmann 784
b) Modifikation von Neuberg 785
c) Modifikation von Mooser 786
d) Ausschüttelungs-Verfahren von Ellinger-Hensel . . 788
2. Getrennte Bestimmung von Phenol und p-Kresol 788
a) Destillation der Phenole in Dampfstrom 791
b) Titration der Phenole 792
I. Bestimmung von b_1 792
II. Bestimmung von b_2 792

Digitized by Google

Seite
3. Kolorimetrische bezw. spektrophotometrische Bestimmungen des Phenols 793
III. Brenzkatechin 793
Vorkommen 793
Eigenschaften 795
Nachweis 795
IV. Hydrochinon 796
Vorkommen, Eigenschaften 796
Nachweis 797
V. Indoxyl 797
Vorkommen 798
Eigenschaften 801
Darstellung 804
Nachweis 805
Bestimmungsmethoden 807
1. Titrimetrische Bestimmung des Indigoblaus 808
Modifikation von Imabuchi 810
2. Wägung des Indigoblaus 810
3. Kolorimetrische Bestimmung des Indigoblaus 810
4. Spektrophotometrische Bestimmung des Indigoblaus nach F. Müller 811
5. Titration des Indigrots (Bouma) 811
6. Kolorimetrische Bestimmung des Indigrots 812
7. Kolorimetrische Bestimmung nach Montfet 813
Umwandlungsprodukte des Skatols 814

Säuren 815
Benzoesäure 815
Vorkommen, Eigenschaften 815
Nachweis und Darstellung 816
Bestimmung 817
Hippursäure 817
Vorkommen 817
Eigenschaften 818
Darstellung 821
Nachweis 824
Bestimmungsmethoden 825
I. Darstellung und Wägung der Hippursäure 825
1. Verfahren von Bunge und Schmiedeberg 825
2. Modifikation von Rem-Picci 826
3. Methode von Dakin 826
II. Bestimmung des Hippursäure-Stickstoffs 828
III. Bestimmung der Hippursäure durch Formoltitration 828
IV. Methoden, nach welchen die freie und gebundene Benzoesäure bestimmt wird 828
1. Methode von Jaarsveld und Stockvis 828
2. Methoden, bei welchen die aus Hippursäure abgespaltene Benzoesäure mit Wasserdampf abdestilliert wird 830
a) Methode von Pfeiffer, Bloch und Riecke 830
b) Methode von Wiechowski 833
c) Methode von Seo 836
3. Bestimmung der Gesamt-Benzoesäure nach Folin und Flanders 836
V. Bestimmung der Benzoesäure, Hippursäure und Phenacetursäure nach Steenbock 838
Phenacetursäure 838
Vorkommen, Eigenschaften 838
Darstellung, Nachweis, Bestimmung 840

Digitized by Google

Seite

Aromatische Oxysäuren 842
I. Die Oxysäuren des normalen Harns 842
1. Paraoxyphenylessigsäure 842
Vorkommen 842
Darstellung 843
Nachweis 844
2. Paraoxyphenylpropionsäure 845
Eigenschaften 845
Darstellung, Nachweis 846
3. Paraoxybenzoesäure 846
Vorkommen, Eigenschaften 846
II. p-Oxyphenylmilchsäure 847
Vorkommen, Eigenschaften 847
Darstellung 848
III. Gallussäure 849
Vorkommen, Eigenschaften, Darstellung, Bestimmung 849
IV. Homogentisinsäure (Alkaptonurie) 850
Vorkommen 851
Eigenschaften 854
Darstellung 858
Nachweis 860
Bestimmung 861
Anhang: Bestimmung der Gallussäure 862

Heterocyclische Säuren 862
I. Indolessigsäure 862
Vorkommen 863
Eigenschaften 864
Nachweis 866
II. Unbekannte Substanzen, die bei der Destillation des Harns Indol abspalten 866
III. Kynurensäure 868
Vorkommen 868
Eigenschaften 870
Darstellung 873
Nachweis 876
Bestimmung 877
Lithursäure 877
Vorkommen 877
Eigenschaften 878

Farbstoffe, die den Indolkern enthalten 878
I. Indigblau 878
Vorkommen 878
Eigenschaften 879
Nachweis 880
II. Rote Farbstoffe 881
Indigorot 881
Vorkommen 881
Eigenschaften 882
Darstellung 884
Nachweis 885
Urorosein 886
Vorkommen 887
Eigenschaften 888
Darstellung 889
Nachweis 890
Skatolrot 891

Digitized by Google

Seite

Farbstoffe unbekannter Abstammung 892
Urocrythrin 892
Vorkommen 892
Eigenschaften 893
Darstellung 897
Nachweis 898
Urohämatin von Harley 899
Giacosas Farbstoff 899
Der Harnsäurefarbstoff von Kunkel 900
Der von Leube beobachtete Farbstoff 900
Der von Thormählen beobachtete Farbstoff 901
Der von Schölberg beobachtete Farbstoff 901
Nephrorosein 902
Anhang. Farbstoffe, die bei Gegenwart von Formaldehyd auftreten . . 902

Die Purinstoffe und das Allantoin. Von W. Wiechowski-Prag . 904

A. Allgemeine Übersicht 906
1. Die endogene Purinausscheidung 909
2. Die exogene Ausscheidung 916
3. Die Verteilung der Purinstoffe im Harn und ihr Schicksal im Organismus 925
Allgemeine Eigenschaften 931
Bestimmung des Gesamt-Purin-Stickstoffs 940
1. Fällung als Silberoxydylverbindungen. Verfahren nach Camerer-Arnstein 941
2. Fällung als Kupferoxydulverbindungen nach Krüger und Schmid 946

B. Die Purinbasen 948
I. Die einzelnen Purinbasen 948
1. Adenin 948
Vorkommen 948
Eigenschaften 949
Darstellung, Nachweis 954
2. Guanin 954
Vorkommen, Eigenschaften 955
Darstellung 959
3. Epiguanin 959
Vorkommen 960
Synthese, Eigenschaften, Nachweis 960
4. Hypoxanthin 961
Vorkommen, Bildung 961
Eigenschaften 962
Darstellung 964
Nachweis 965
5. Episarkin 965
6. Xanthin 965
Vorkommen 965
Bildung, Eigenschaften 966
Darstellung, Nachweis 969
7. 1-Methylxanthin 970
Vorkommen, Eigenschaften 971
Nachweis 971
8. 3-Methylxanthin 971
Vorkommen, Eigenschaften 971
9. Heteroxanthin 972
Vorkommen, Synthese 972
Eigenschaften 973
Nachweis, Darstellung 974

Digitized by Google

Seite
10. Paraxanthin 975
Vorkommen, Synthese, Eigenschaften 975
Darstellung, Nachweis 976
II. Quantitative Bestimmung der Purinbasen 976
Direkte Verfahren 979
1. Durch Fällung als Silbersalz 979
a) Nach Salkowski 979
b) Im Anschluss an die Harnsäurebestimmung nach Ludwig 981
c) Nach Kennaway 982
d) Nach Niemilowicz 982
2. Durch Fällen als Kupferoxydulsalz nach Krüger und Schmid 983
3. Durch Fällen mit Phosphorwolframsäure 984
4. Durch Titrieren mit Silbersalz 984
Indirekte Verfahren 985
1. Nach Haycraft 985
2. Nach Camerer 987
III. Darstellung, Trennung und Identifizierung der Purinbasen . . . 988
1. Trennung der Basen in Verbindung mit salpetersaurem Silber . 989
a) Verarbeitung der Lösung (Xanthinfraktion) 990
b) Untersuchung der Hypoxanthinfraktion 994
2. Trennung der Basen in den salzsauren Mutterlaugen der Harnsäure. (Krüger und Salomon) 997
Anhang 1000

C. Die Harnsäure 1006
Vorkommen 1001
Synthesen 1001
Physiologisches Verhalten 1001
Eigenschaften 1010
Verbindungen 1014
a) Mit Basen. Die Urate 1014
b) Verbindungen von Säuren 1023
Verhalten der Harnsäure im Harn 1032
Darstellung 1037
Nachweis 1041
Bestimmung 1043
I. Der reinen Harnsäure 1043
1. Acidimetrisch 1043
2. Mit Permanganat 1044
3. Als Silber-Magnesiumsalz 1046
a) Durch Bestimmung des Stickstoffgehalts 1046
b) Durch Bestimmung des Silbergehalts 1046
c) Durch Zurücktitrieren des Silberüberschusses 1047
4. Andere Bestimmungsweisen 1048
II. Bestimmung der im Harn enthaltenen Harnsäure 1050
1. Nach Ludwig 1051
2. Nach Krüger und Schmid 1059
3. Nach Hopkins 1060
4. Als Barytsalz 1064
5. Als Zinksalz nach Bellocq 1064
6. Durch Titrieren mit Silberlösung 1064
7. Durch Reduktion von Jodsäure 1065
a) Nach Ruhemann 1065
b) Nach Merck 1065

Digitized by Google

Seite

8. Durch Reduktion von Silbersalz 1065
9. Bestimmung der Harnsäure im Vogelharn nach Kossa . . 1065

D. Das Allantoin 1065
Bildung 1068
Eigenschaften 1070
Darstellung 1072
Nachweis 1073
Quantitative Bestimmung 1075
1. Mittelst des Silbersalzes 1075
2. Nach Wiechowski 1076
a) Im Tierharn 1077
b) Im Menschenharn 1079

Anhang: Urocaninsäure. Von A. Ellinger-Königsberg 1081
Vorkommen 1081
Eigenschaften 1082

Nucleinsäure. Von W. Wiechowski-Prag . . . . 1082 c
Eigenschaften, Erkennung . . . . 1082 d

Nucleinsäure . . . . 1082 e
Allgemeine Eigenschaften . . . . 1082 f
Schicksal im Organismus . . . . 1082 f

A Die Nucleinsäuren im engeren Sinne . . . . 1082 i
I. Die tierischen Nucleinsäuren . . . . 1082 i
a) Die Thymonucleinsäure . . . . 1082 k
b) Die Harnnucleinsäure . . . . 1082 o
Vorkommen, Nachweis . . . . 1082 o
II. Die pflanzlichen Nucleinsäuren . . . . 1082 p

B. Nucleotide . . . . 1082 q
I. Guanylsäure . . . . 1082 q
II. Inosinsäure . . . . 1082 r

C. Nucleoside . . . . 1082 s
I. Guanosinsäure und Xanthosin . . . . 1082 s
II. Adenosin . . . . 1082 t
III. Inosin und Carnin . . . . 1082 t
1. Inosin . . . . 1082 t
2. Carnin . . . . 1082 u
Eigenschaften . . . . 1082 u

Die Eiweisskörper des Harns. Von F. N. Schulz-Jena 1083
A. Allgemeines (Einteilung der Eiweisstoffe) 1083
B. Löslichkeitsverhältnisse 1084
C. Koagulation 1085
D. Das Aussalzen 1086
E. Optische Aktivität 1087
F. Fällung durch Schwermetalle 1087
G. Fällungsreaktionen (Alkaloidreaktionen) 1087
H. Verhalten gegen Anilinfarben 1088
I. Farbenreaktionen 1089

Allgemeines über Vorkommen 1096
I. Der normale Eiweissgehalt 1097
II. Die verschiedenen Eiweissstoffe 1101

Digitized by Google

Seite
I. Albumin 1101
Eigenschaften 1101
Nachweis 1106
1. Fällung als koaguliertes Eiweiss 1106
2. „ „ Acidalbumin 1110
3. „ durch spezifische Reagentien 1112
4. Nachweis von Albumin als solchem 1122
Abscheidung 1124
Quantitative Bestimmung 1127
I. Bestimmung des Gesamteiweisses 1127
II. Gesonderte Bestimmung des Globulins und Albumins . . . 1150
II. Globuline 1153
1. Serumglobulin 1154
Vorkommen 1154
Eigenschaften 1156
Nachweis 1158
2. Fibrinogen 1161
3. Fibrin 1162
III. Die mit Essigsäure fällbaren Eiweissstoffe 1163
A. Das typische Harnmucoid 1165
Vorkommen, Eigenschaften 1165
Darstellung 1168
Nachweis 1169
B. Die mucinähnliche Substanz 1170
C. Die durch Essigsäure fällbaren Eiweissverbindungen (Mörner) 1173
Eigenschaften 1173
Nachweis 1177
D. Phosphorproteide des Harns 1179
Vorkommen 1179
Eigenschaften 1180
I. Nucleoalbumine 1180
II. Nucleoproteide 1181
III. Nucleohiston 1181
IV. Histon 1183
E. Der Bence-Jonessche Eiweisskörper 1184
F. Krystallierte Eiweisskörper des Harns 1190
IV. Die Albumosen des Harns (Allgemeines) 1191
1. Die Verdauungsalbumosen 1194
2. Das Verdauungspepton 1200
3. Die Harnalbumosen 1201
Vorkommen 1201
Eigenschaften 1205
Nachweis 1208
Bestimmung 1216
V. Hämoglobin 1217
Vorkommen 1217
Eigenschaften 1218
Nachweis 1221
VI. Methämoglobin 1233
VII. Proteinsäuren 1234
A. Vorkommen und Bedeutung 1234
B. Die einzelnen Proteinsäuren 1237
I. Antoxyproteinsäure 1237
Eigenschaften 1237
Darstellung und Nachweis 1238

Digitized by Google

Seite

II. Oxyproteinsäure 1239
Eigenschaften 1239
Nachweis und Darstellung 1240
III. Alloxyproteinsäure 1242
Eigenschaften 1242
Nachweis und Darstellung 1243
IV. Uroferrinsäure 1243
V. N-haltige Säure von Hári 1246
VI. Polypeptidartige Körper 1247
C. Quantitative Bestimmung 1248
Anhang: Die Diazoreaktion 1252

VIII. Eiweissabkömmlinge 1256
1. Chondroitinschwefelsäure 1256
2. Nukleinsäure 1264
3. Fleischsäure 1267
4. Gallensäuren 1272
Vorkommen 1272
Eigenschaften 1273
Nachweis 1278

Die Harnfarbstoffe. Von F. N. Schulz-Jena 1283

I. Urochrom (siehe auch S. 878—903) 1286
Vorkommen 1286
Ursprung 1288
1. Das Urochrom von Dombrowski 1289
Eigenschaften 1289
Darstellung 1292
Bestimmung 1293
2. Das Urochrom von Hohlweg 1294
Eigenschaften 1294
Darstellung 1295
3. Das Urochrom von Garrod 1297
Herkunft, Eigenschaften 1297
Darstellung 1299
Nachweis 1301
4. Das Urochrom nach Thudichum 1301
5. Chromoxyproteinsäure von Bocchi und Ghelfi 1303
6. Urochrom von Weisz 1303
7. Harnfarbstoffe von Schunck 1306
8. Derivate von Urochrom 1306
a) Uromelanin von Plósz 1307
b) Uromelanin von Dombrowski 1307
c) Bromuropyrryl 1308
d) Die Huminsubstanz von Udránszky 1309
e) Die braunen bei der Rosenbach schen Methode entstehenden Stoffe 1310
f) Präformierte Huminsubstanz nach v. Udránszky . . . 1310
g) Die Karbolharne 1311

II. Melanin und Melanogen 1313
Vorkommen 1313
Eigenschaften 1314
Nachweis 1316

III. Hämatin 1317
Vorkommen, Eigenschaften 1317
Nachweis 1318

Digitized by Google

Seite

IV. Hämatoporphyrin . . . 1319
Vorkommen . . . 1319
Eigenschaften . . . 1322
Nachweis . . . 1334
Darstellung . . . 1342
Bestimmung . . . 1343

V. Urorubrohämatin und Urofuscohämatin . . . 1344

VI. Gallenfarbstoffe . . . 1345
Vorkommen . . . 1345
Eigenschaften . . . 1346
a) Bilirubin . . . 1346
b) Biliverdin . . . 1350
c) Biliprasin . . . 1351
d) Bilifuscin . . . 1351
e) Cholecyanin . . . 1352
f) Choletelin . . . 1353
g) Der reduzierbare Stoff von Stokvis . . . 1354
Nachweis . . . 1355
I. In Harn direkt . . . 1355
II. Durch Isolierung . . . 1359
III. In Uratsedimenten . . . 1366
IV. Nachweis der einzelnen Gallenfarbstoffe . . . 1366
Bestimmung des Bilirubins . . . 1367

VII. Urobilin und Urobilinogen . . . 1370
I. Urobilin . . . 1370
Vorkommen . . . 1370
Eigenschaften . . . 1379
Darstellung . . . 1387
Nachweis . . . 1392
Bestimmung . . . 1398
II. Urobilinogen . . . 1404
Vorkommen . . . 1405
Eigenschaften . . . 1405
Nachweis . . . 1407
Darstellung . . . 1410
Bestimmung . . . 1411

Zufällige Bestandteile . . . 1414

I. Teil. **Anorganische Körper.** Von **K. Spiro**-Strassburg i. E. . . . 1414
A. Metalle . . . 1414
1. Quecksilber . . . 1414
Vorkommen . . . 1414
Eigenschaften . . . 1415
Nachweis . . . 1416
Bestimmung . . . 1419
1. Nach Winternitz . . . 1419
2. Nach Jolles . . . 1420
3. Nach Ludwig und Zillner . . . 1420
4. Nach Schuhmacher II und W. Jung . . . 1420
a) Gravimetrisches Verfahren . . . 1420
b) Colorimetrisches Verfahren . . . 1421
5. Nach Ernst Jäneke . . . 1422
6. Nach P. E. Raaschou und E. Hintz . . . 1423
7. Nach C. Siebert . . . 1424
8. Nach P. Farup . . . 1425

Digitized by Google

Seite

2. Arsen 1427
Vorkommen 1427
Eigenschaften 1428
Nachweis 1429
I. Zerstörung der organischen Substanz 1429
1. Nach Fresenius mit Kaliumchlorat und Salzsäure 1429
2. Schmelzverfahren. Nach E. Salkowski 1430
3. Säureverfahren. Nach E. Salkowski 1430
4. Nach G. Lockemann. 1430
II. Nachweis im Marshschen Apparat 1434
5. Nach E. Reichardt 1436
6. Nach O. E. Carlson 1437
7. Nach Ch. Sanger und C. F. Black 1438
8. Nach Gutscheid-Burnaschew 1438
Bestimmung 1438
3. Antimon 1439
4. Blei 1439
5. Silber 1439
6. Thallium 1440
7. Cadmium 1440
8. Lithium 1440
9. Wismut 1441

B. Säuren 1441
1. Pyrophosphorsäure 1441
2. Chlorsäure 1442
3. Jodwasserstoff 1443
Bestimmung des Jodwasserstoffs 1444
I. Verfahren von Kersting 1444
II. Verfahren von Hilger 1446
III. Verfahren von Pečirka 1446
IV. Verfahren von Harnack 1447
V. Verfahren von Wallace und Lamont 1447
VI. Verfahren von Sandlund 1447
VII. Verfahren von Nicolle 1448
VIII. Verfahren von Nencki und Schoumow-Simanowsky 1448
IX. Verfahren von Vielliers und Fayolle 1449
X. Verfahren von Jolles 1449
XI. Colorimetrisches Verfahren von Struve 1449
XII. Nach H. Anten 1449
4. Bromwasserstoff 1450
Bestimmung des Bromwasserstoffs 1451
I. Nach Berglund 1451
II. Nach Nicolle 1452
III. Nach Caigniet 1452
IV. Indirektes Verfahren 1452
5. Bromsäure 1453
6. Borsäure 1453

II. Teil. **Organische Stoffe.** Von **F. N. Schulz-Jena** 1455
Äthylalkohol 1455
Vorkommen 1455
Eigenschaften, Nachweis 1456
Quantitative Bestimmung 1456

Digitized by Google

	Seite
Methylalkohol	1458
Vorkommen, Eigenschaften, Nachweis	1458
Bestimmung	1459
Chloroform	1459
Vorkommen	1459
Eigenschaften, Nachweis	1460
Bestimmung	1461
Jodoform	1461
Chloralhydrat	1461
Urochloralsäure	1462
Vorkommen, Eigenschaften, Nachweis	1462
Sulfonal	1463
Vorkommen, Eigenschaften, Nachweis	1463
Tetronal und Trional	1464
Kakodylsäure	1464
Vorkommen, Eigenschaften, Nachweis	1464
Piperazin	1464
Vorkommen	1464
Eigenschaften, Nachweis	1465
Hexamethylentetramin. Urotropin	1465
Vorkommen, Nachweis	1465
Bestimmung nach Schröter	1466
Veronal	1466
Vorkommen	1466
Eigenschaften, Nachweis	1467
Salicylsäure	1467
Vorkommen, Eigenschaften	1467
Nachweis	1468
Salicylursäure	1469
Eigenschaften, Nachweis	1469
Pikrinsäure	1469
Guajacol	1469
Vorkommen	1469
Eigenschaften, Nachweis, Bestimmung	1470
Thymol. Methylpropylphenol	1471
Vorkommen, Eigenschaften, Nachweis	1471
Naphthalin und Naphthol	1472
Vorkommen, Nachweis	1472
Copaivaharn	1473
Piperazin	1475
Lysidin	1475
Anthrachinonharne	1475
Santonin	1476
Sandelöl	1478
Anilin	1479
Acetanilid	1480
Phenacetin	1480
Antipyrin	1481
Pyramidon	1482
Nitrobenzol	1483
Alkaloide	1484
I. Chinin	1484
Vorkommen, Eigenschaften	1484
Nachweis	1485
Bestimmung	1487
II. Cinchonin	1490
III. Chinolinharne	1490

Digitized by Google

Seite
IV. Morphium 1491
Vorkommen, Eigenschaften 1491
Nachweis im Harn 1492
V. Codein 1494
VI. Strychnin 1494
VII. Theobromin und Caffein 1495
Auftreten, Eigenschaften 1495
Darstellung 1496

Anhang. **Glykuronsäure und gepaarte Glykuronsäuren** 1497
I. Glykuronsäure 1497
Vorkommen 1497
Eigenschaften 1498
II. Gepaarte Glykuronsäuren 1505
1. Allgemeines 1505
2. Die Glykuronsäuren des normalen Harns 1510
3. Die unter besonderen Bedingungen auftretenden Glykuronsäuren 1511
4. Der Nachweis der gepaarten Glykuronsäuren 1517
5. Die quantitative Bestimmung der gepaarten Glykuronsäuren . 1518

Enzyme. Von weiland **F. Falk** und **H. Eppinger**-Wien 1522
1. Harn-Pepsin 1523
Vorkommen 1523
Nachweis und Bestimmung der peptischen Wirksamkeit . 1525
A. Das Fibrinflocken-Verfahren 1526
B. Das Casein-Verfahren 1528
C. Ricin-Verfahren 1528
D. Edestin-Verfahren 1529
2. Harn-Trypsin und Antitrypsin 1530
Vorkommen 1530

Harn-Sedimente. Von weiland **F. Falk** und **H. Eppinger**-Wien . . . 1540
A. Nichtorganisierte Sedimente 1540
1. Harnsäure und harnsaure Salze (Urate) 1542
Vorkommen, Bildung 1542
Eigenschaften 1546
2. Phosphorsaure Salze 1549
Vorkommen und Bildung 1549
Eigenschaften 1552
3. Oxalsaurer Kalk 1554
Vorkommen 1554
Eigenschaften 1556
Nachweis 1557
4. Schwefelsaurer Kalk 1557
Vorkommen 1557
Bildung, Eigenschaften 1558
Nachweis 1559
5. Kohlensaurer Kalk 1559
Vorkommen, Bildung, Eigenschaften 1559
Nachweis 1560
6. Hippursäure 1560
Vorkommen, Eigenschaften 1560
7. Cystin 1560
Vorkommen und Bildung 1560
Eigenschaften 1561

Digitized by Google

Seite
8. Xanthin 1561
Vorkommen und Eigenschaften 1561
Nachweis 1562
9. Leucin und Tyrosin 1562
Vorkommen und Bildung 1562
Eigenschaften 1563
10. Heteroalbumose 1564
11. Cholesterin 1565
Vorkommen, Eigenschaften 1565
12. Fett, Fettsäurenadeln und „Lipoide" 1566
Vorkommen und Bildung 1566
Nachweis 1567
13. Pigmente 1567
a) Indigblau, Indigrot 1568
Vorkommen und Bildung 1568
Eigenschaften 1569
b) Bilirubin (Hämatoidin) 1570
Vorkommen, Eigenschaften 1570
c) Uroerythrin 1571
Vorkommen 1571
d) Rubazonsäure 1571
Überblick über die nichtorganisierten Sedimente 1571
B. Organisierte Sedimente. Untersuchungs-Methodik 1573
1. Elemente des Blutes 1577
a) Erythrocyten 1577
Vorkommen 1577
b) Leukocyten 1579
c) Fibringerinnsel 1580
2. Elemente des Epithelbelags und der Drüsen 1580
a) Epithelien 1580
b) Geschwulstpartikel 1582
c) Spermatozoen 1582
d) Schleimsedimente 1583
e) Cylindroide 1584
f) Urethralfäden 1585
3. Harncylinder 1585
4. Harn-Mikroorganismen. Untersuchungsmethodik 1589
A. Nichtpathogene Mikroorganismen 1591
1. Schimmel- und Sprosspilze 1591
2. Spaltpilze 1592
B. Pathogene Mikroorganismen 1593
Tierische Parasiten 1598
Harnkonkremente 1600
A. Allgemeines 1600
Vorkommen 1600
Bildung 1601
B. Spezielles 1601
1. Uratsteine 1602
2. Phosphatsteine 1602
3. Calciumcarbonatsteine 1602
4. Calciumoxalatsteine 1603
5. Cystinsteine 1603
6. Xanthinsteine 1603
7. Indigosteine 1604
8. Cholesterinsteine und sogenannte Urostealithen 1604
9. Gemischte Steine 1605
C. Analyse 1605

Digitized by Google

Seite

Anhang I. **Agglutinine und Lysine** 1609
Lysogene und agglutinogene Substanzen 1609
1. Agglutinine 1609
2. Lysine 1610
3. Agglutinogene und lysogene Substanzen 1611

Anhang II. **Berichtigungen und Ergänzungen** 1613
Bestimmung des reduzierenden Zuckers nach Stanley R. Benedict 1613
Darstellung von Normalsalzsäure nach G. A. Hulett und W. D. Bonner 1614

Anhang III. **Tabellen** 1615
Atom- und Molekulargewichte und deren Logarithmen . . 1615
Zur Berechnung der Analysen 1615
Volumetrische Stickstoffbestimmung 1616
Annähernde Zusammensetzung der Reagentien nach Emil Fischer 1616

Logarithmen 1617
Sachregister 1623
Tafeln.

Digitized by Google

Diamine.

Von A. Ellinger, Königsberg i. Pr.

A. Vorkommen. Das Tetramethylendiamin (Putrescin) und das Pentamethylendiamin (Cadaverin) sind von v. Udránszky und E. Baumann im Harn eines an Cystinurie Leidenden aufgefunden worden, das Cadaverin allein in zwei anderen Fällen von Cystinurie von Stadthagen u. Brieger; in dem Fall von v. Udránszky u. Baumann enthielt der Harn nach García[1]) später nur Putrescin.

In dem Fall von v. Udránszky und Baumann wurden aus dem Harn täglich meist 0,2—0,4 g Benzoyldiamine gewonnen, von denen nur $^1/_4$—$^1/_3$ auf das Putrescin kam; an anderen Tagen überwog wieder das Putrescin. Die Untersuchung wurde im Laufe von mehr als einem Jahr an 50 Tagen vorgenommen und einmal 8 Tage hintereinander so gut wie kein Diamin aufgefunden, während die Cystinurie anhielt. Bei an Kohlenhydraten reicher Kost sank nach García das Diamin auf $^1/_3$—$^1/_4$, nahm aber bei Zulage von Käse zur Kost zu. In diesem Fall sowie in einem von Stadthagen und Brieger bestand zugleich Blasenkatarrh. In den Exkrementen des Kranken von v. Udránszky und Baumann waren die Basen gleichfalls enthalten (bis 0,5 g im Tag), mit nur 10—15 % Pentamethylendiamin; in dem einen Fall von Stadthagen und Brieger, in welchem der Kot auf die Diamine untersucht wurde, fehlten sie.

Die Diamine sind keineswegs regelmässige Begleiter des Cystins im Harn, in vielen Fällen fehlen sie ganz, zuweilen wurde nur eines von beiden gefunden. Nach einer Zusammenstellung von Garrod[2]) wurden weiterhin Diamine gefunden in Fällen von Bödtker, C. E. Simon, Riegler, Marriott u. Wolf, Thiele, Cammidge, Schölberg und in vier Fällen von Garrod; sie wurden vermisst

[1]) L. v. Udránszky und E. Baumann, Berichte d. chem. Gesellsch. **21.** 2744. u. 2938. 1888; Zeitschr. f. physiol. Chem. **13.** 562. 1889. — Stadthagen und Brieger, Virchows Archiv **115.** 490. 1889; Berliner klin. Wochenschr. 1889. 345. — S. A. García, Zeitschr. f. physiol. Chem. **17.** 568. 1892.

[2]) A. E. Garrod, Inborn errors of metabolism. Croonian Lectures 1908. London 1909. S. 121, dort Literatur und A. E. Garrod and W. H. Hurtley, Journ. of Physiol. **34.** 216. 1906. (Lit.)

Digitized by Google

in fünf Fällen von Garrod, einem Fall von Baumann und bei den von Cohn, Alsberg u. Folin, Loewy u. Neuberg, Hurtley und Hele beobachteten Cystinurikern.

Nach dem Urteil von Garrod, dem die grössten eigenen Erfahrungen über Cystinurie-Harne zu Gebote stehen, muss man an vielen Tagen auf Diamine untersuchen, um einmal nachweisbare Mengen zu finden.

Von den beiden Diaminen ist Cadaverin öfter im Harn, Putrescin häufiger in den Fäces gefunden worden.

Bei der Verarbeitung von 100 Liter normalen Harns fand Dombrowski nachweisbare Mengen von Cadaverin (Isolierung s. S. 710), Hunter will Spuren von Benzoyl-Diaminen aus grossen Harnmengen von Patienten mit perniciöser Anämie, Gardeur Cadaverin aus dem Harn von Melancholikern erhalten haben. In den Fäces fand Roos[1]) Cadaverin bei einem Dysenterie-Kranken und Putrescin in einem Fall von Cholera nostras; der Harn dieser Patienten wurde nicht geprüft. Bei mehreren Fällen von Cholera asiatica stellte Roos aus dem Stuhl Benzoyldiamine dar, fand aber keine Diamine im Harn.

Über die Herkunft der Diamine, die zuerst von Brieger als Fäulnisprodukte von Leichenteilen isoliert wurden, liegen folgende Erfahrungen vor: Sie entstehen in reichlicher Menge durch bakterielle Zersetzung der entsprechenden Diaminocarbonsäuren Ornithin und Lysin (Ellinger, Ackermann) und sind aufgefunden bei autolytischer Magen- und Pankreasverdauung (Lawrow, Werigo, Steyrer), bei Digestion von Lebergewebe und Ornithin (Dakin) und bei sehr langer Einwirkung von Pepsin-Schwefelsäure auf krystallisiertes Ovalbumin (Langstein). Inwieweit die Mitwirkung von Bakterien in diesen Versuchen ausgeschlossen war, lässt sich aus den Angaben nicht mit voller Sicherheit feststellen. Von grösster Wichtigkeit ist die Beobachtung von Loewy und Neuberg[2]), dass im Harn eines Cystinurikers, der sonst keine Diamine im Harn ausschied, nach Verzehren von Arginin Putrescin, von Lysin Cadaverin in beträchtlichen Mengen erschien.

[1]) St. Dombrowski, Arch. Polon. des sciences biolog. et médicales. **2.** 1903. Sep.-Abdr. 11 S. — W. Hunter, Transact. of the Med. Soc. of Londons **13.** 386. 1890, zit. nach Garrod. — A. Gardeur, Méthode de recherche des poisons physiologiques dans les urines. Bruxelles 1898. Travaux de labor. de l'Inst. Solvay II. H. 1. — E. Roos, Zeitschr. f. physiol. Chem. **16.** 192. 1892. — E. Roos, Berl. klin. Wochenschr. 1893. Nr. 15.

[2]) L. Brieger, Untersuchungen über Ptomaine. I—III. Berlin 1885/86. — A. Ellinger, Zeitschr. f. physiol. Chem. **29.** 334. 1900. — D. Ackermann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **60.** 482. 1909 und **64.** 91. 1910. — D. Lawrow, Zeitschr. f. physiol. Chem. **33.** 312. 1901. — B. Werigo, Pflügers Arch. **51.** 362. 1891. — A. Steyrer, Hofm. Beitr. **1.** 506. 1902 — H. D. Dakin, Journ. of biol. chem. **1.** 171. 1905/06. — L. Langstein, Hofm. Beitr. **2.** 229. 1902. — A. Loewy und C. Neuberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. **43.** 338. 1904.

Digitized by Google

Baumann und v. Udránszky nahmen — entsprechend dem damaligen Stand der Kenntnisse über die Entstehung der Diamine — an, dass die Basen infolge eines anormalen Vorganges im Darm in grosser Menge entstünden, zumal sie auch in den Exkrementen regelmässig ausgeschieden wurden. Aber alle Versuche, charakteristische Bakterien aus dem Darminhalt zu züchten oder durch Darmdesinfektion die Diaminurie zu unterdrücken, waren vergeblich. Moreigne und Simon[1]) dagegen betrachteten die Diaminurie als eine Störung des intermediären Eiweissabbaues. Wiewohl diese Anschauung durch den Befund von Loewy und Neuberg eine starke Stütze erhalten hat, so ist sie bisher ebensowenig erwiesen wie die ältere, weil bisher keine Erfahrungen über das Verhalten von Arginin und Lysin bei subkutaner Darreichung an Cystinuriker vorliegen.

Auch bliebe bei der Annahme, dass die Diamine ausserhalb des Darmkanals entstehen, ihre Ausscheidung in den Fäces zu erklären. Denn nach einer Angabe von Neuberg[2]) waren bei den genannten Versuchen am Cystinuriker in den Fäces keine Diamine nachweisbar.

Die Menge der ausgeschiedenen Diamine scheint nach García und Thiele[3]) von der Eiweisszufuhr abhängig zu sein.

I. Putrescin.

$C_4H_{12}N_2$.

$H_2N \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot NH_2$

Syn. Tetramethylendiamin, 1,4-Diaminobutan.

Die Identität des Putrescins und Tetramethylendiamins ist von v. Udránszky und Baumann nachgewiesen, die Konstitution von Ladenburg[4]) festgestellt, der es durch Reduktion von Äthylencyanid mit Natrium in alkoholischer Lösung erhielt.

$$N \equiv C.CH_2.CH_2.C \equiv N + 8\,H = H_2N.CH_2.CH_2.CH_2.CH_2.NH_2.$$

Eigenschaften[5]). 1. Das Tetramethylendiamin bildet eine farblose, ziemlich dünne Flüssigkeit von Spermageruch, welcher von dem

[1]) H. Moreigne, Arch. de méd. exper. 11. 254. 1899. — C. E. Simon, Amer. Journ. of med. sciences. 119. 39. 1900, zit. nach Garrod.

[2]) C. Neuberg, Handbuch d. Biochemie von C. Oppenheimer, IV. 2. S. 352. Jena 1910.

[3]) García a. a. O. — F. H. Thiele, Journ. of Physiol. 36. 68. 1907.

[4]) L. v. Udránszky und E. Baumann, Ber. d. chem. Ges. 21. 2938. 1888. — A. Ladenburg, Ber. d. chem. Ges. 19. 780. 1886.

[5]) Brieger, Untersuchungen über Ptomaine 2. 42. 54. 57. 63; 3. 24. 100. — Bocklisch, Berichte d. chem. Gesellsch. 18. 1925. 1885. — Ladenburg, Berichte d. chem. Gesellsch. 19. 780. 1886. — v. Udránszky und Baumann, Ber. 21. 2744. 1888 u. a. a. O.

Digitized by Google

des Cadaverins kaum verschieden ist, raucht etwas an der Luft, zieht leicht Kohlensäure an, erstarrt in niederer Temperatur und schmilzt bei 23—24°, nach Kaufler[1]) bei 27° wieder, siedet bei 158—160°, ist mit Wasserdämpfen schwer flüchtig und wird durch Destillieren mit Kalilauge nicht zerstört. Löst sich leicht in Wasser, schwer in Äther. Ist optisch inaktiv und wie das Cadaverin wenig giftig.

2. Das Chlorhydrat, $C_4H_{12}N_2$, 2 HCl, lange, farblose, transparente Nadeln oder weiche tafelförmige Krystalle, ist nicht hygroskopisch, löst sich sehr leicht in Wasser, schwer in verdünntem Alkohol, nicht in absolutem Alkohol und in Äther. — Das Sulfat bildet gut ausgebildete, nicht zerfliessliche Krystalle. — Das Platinsalz $C_4H_{12}N_2$, H_2PtCl_6 krystallisiert in meist zu Drusen verwachsenen Nadeln oder in sechsseitigen, häufig übereinander geschichteten Plättchen und löst sich schwer in Wasser. — Das Goldsalz $C_4H_{12}N_2$, 2 H Au Cl_4, 2 H_2O krystallisiert in Plättchen und ist schwer löslich. — Die Quecksilberchloridverbindung ist leicht löslich; aus alkoholischer Lösung kann aber die Base durch alkoholische Sublimatlösung gefällt werden. — Das Pikrat scheidet sich auf Zusatz von Pikrinsäure zur Lösung des Chlorids in seidenglänzenden, verfilzten, dünnen, gelben Nadeln ab, ist in kaltem Wasser fast unlöslich. — Das Pikrolonat $C_4H_{12}N_2$, 2 $C_{10}H_8N_4O_5$, aus dem Carbonat und wässeriger Pikrolonsäure oder aus der Lösung des Chlorhydrats und der Pikrolonsäure in Alkohol erhalten, bildet gelbe Nadeln vom Zersetzungspunkt 263°, die in Wasser und Alkohol in der Kälte sehr schwer, in der Wärme etwas mehr löslich sind (Otori)[2]).

3. Alkaloidreaktionen. Die freie Base gibt mit Phosphorwolframsäure einen weissen, im Überschuss löslichen Niederschlag, mit Phosphormolybdänsäure einen gelben, mit Kaliumquecksilberchlorid, Kaliumwismuthjodid und Kaliumcadmiumjodid ölige, bald krystallinisch werdende Niederschläge, mit Gerbsäure einen schmutzig weissen.

Die Niederschläge des Chlorids sind mit Phosphorwolframsäure weiss, mit Phosphormolybdänsäure gelb, mit Kaliumquecksilberchlorid und Kaliumwismuthjodid amorph, bald zu Nadeln erstarrend, mit Jodjodkalium und Jodjodwasserstoff braun, krystallinisch. Kaliumcadmiumchlorid gibt keinen Niederschlag.

4. Dibenzoyl-Tetramethylendiamin, $C_4H_8(NH\cdot CO\cdot C_6H_5)_2$, krystallisiert in seidenglänzenden Plättchen oder farblosen Nadeln, schmilzt bei 175—176°, ist in Wasser unlöslich, fast unlöslich in Äther, schwer löslich in kaltem Weingeist, leicht beim Erwärmen; Gegenwart fremder Substanzen in den Lösungsmitteln erhöht die Löslichkeit wie beim Benzoyl-Cadaverin. Die Verbindung sublimiert beim Erhitzen unzersetzt. Beim Erhitzen in alkoholischer Lösung mit Salz-

[1]) F. Kaufler, Chemiker-Zeitg. 25. 133. 1901.
[2]) J. Otori, Zeitschr. f. physiol. Chem. 43. 305. 1904.

Digitized by Google

säure zersetzt sie sich leichter als die des Cadaverins. Sie wird gewonnen wie die des Cadaverins (v. Udránszky und Baumann).

5. Die Verbindung mit Phenylcyanat $C_6H_5 . HN . CO . NH{\cdot}(CH_2)_4{\cdot}NH . CO . NH . C_6H_5$ erhält man nach Loewy u. Neuberg [1]) folgendermassen: 0,88 g Putrescin werden in 50 ccm absolut trocknem Äther gelöst, resp. suspendiert, und unter Kühlung durch Eis mit 2,5 g Phenylcyanat, gelöst in 30 ccm Äther, versetzt. Momentan scheidet sich der Harnstoff unter lebhafter Reaktion in quantitativer Ausbeute ab. Nach dem Waschen mit Äther ist die Verbindung rein. Der Schmelzpunkt liegt bei 240° (korr.). Sie ist unlöslich in Wasser, Aceton, Benzol, Ligroin, Essigäther, Schwefelkohlenstoff und kaltem Alkohol. Von letzterem wird sie in der Siedehitze spurenweise aufgenommen. Sie ist löslich in heissem Nitrobenzol, Anilin und namentlich in warmem Pyridin. Aus diesem oder einem Gemisch von Pyridin mit Aceton krystallisiert sie in Nadeln, Garben oder Büscheln.

6. Durch alternierende Behandlung mit methylalkoholischer Kalilauge und Jodmethyl lässt sich das Chlorhydrat des Tetramethylendiamins quantitativ zum diquaternären Ammoniumsalz methylieren (Willstätter und Heubner) [2]). Nach Abblasen des überschüssigen Holzgeists und Jodmethyls mit Wasserdampf wird die neutrale wässerige Lösung eingeengt, die Hauptmenge des Jodkaliums durch fraktionierte Krystallisation abgetrennt und das restierende Gemisch von Jodkalium und Jodmethylat durch Schütteln mit gefälltem Chlorsilber in die Chloride verwandelt, deren Löslichkeitsverhältnisse mehr differieren. Durch Konzentrieren der wässerigen Lösung wird Chlorkalium abgeschieden, der Trockenrückstand des Filtrats mit wenig siedendem absolutem Alkohol aufgenommen und aus der alkoholischen Lösung das Hexamethyl-Tetramethylendiammoniumchlorid abgeschieden. Es krystallisiert aus Alkohol in tafelförmigen Prismen mit annähernd 2 Mol. Krystallwasser (exsiccatortrocken), die bei 125° abgegeben werden. Wasserhaltig schmilzt das Salz bei 116—117°. Es ist in gleichen Teilen siedenden Alkohols löslich, auch leicht in kaltem Alkohol. — Das in orangegelben, vierseitigen Säulchen krystallisierende Chloroplatinat schmilzt bei 279°, das in gelben Prismen aus salzsäurehaltigem Wasser krystallisierbare Chloraurat zersetzt sich zwischen 304—309°. Das Pikrat ist mit Pikrinsäure aus der Lösung des Chlorids in goldgelben Prismen vom Zersetzungspunkt 285° fällbar. — Das Chlorid zeigt typische Curarinwirkung.

7. Beim Zusammenbringen von Putrescin und Formaldehydlösung tritt keine Abscheidung eines Polymerisationsproduktes ein im Gegensatz zum Cadaverin (Bischoff und Reinfeld) [3]).

8. Durch Einwirkung von salpetriger Säure entstehen 1,3-Butadien C_4H_6, Tetramethylenoxyd C_4H_8O, der Alkohol $CH_2{:}CH.CH_2.CH_2.OH$ und die beiden Glykole $CH_3.CH.(OH).CH_2.CH_2.OH$ und $CH_2(OH).CH_2.CH_2.CH_2.OH$ (Demjanow) [4]).

9. Durch trockene Destillation des Chlorhydrats erhält man Pyrrolidinchlorhydrat (Ackermann) [5]).

---

[1]) A. Loewy und C. Neuberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. **43**. 355. 1904.
[2]) R. Willstätter und W. Heubner, Ber. d. chem. Gesellsch. **40**. 3872. 1907.
[3]) C. A. Bischoff und F. Reinfeld, Ber. d. chem. Gesellsch. **36**. 35. 1903.
[4]) N. Demjanow, Ber. d. russ. phys.-chem. Gesellsch. 1892. (1.) 346, zit. nach Ber. d. chem. Gesellsch. **25**. Ref. 912.
[5]) D. Ackermann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **53**. 545. 1907/08.

Digitized by Google

10. Physiologisches Verhalten: Nach Fütterung von 3 g des Chlorhydrats fanden v. Udránszky und Baumann[1]) 0,056 g der Benzoylverbindung im Harn. Die Dosis war ungiftig.

II. Cadaverin.

$C_5H_{14}N_2$.

$H_2N . CH_2 . CH_2 . CH_2 . CH_2 . CH_2 . NH_2$.

Syn. Pentamethylendiamin, 1,5-Diaminopentan.

Die Konstitution ist durch den Nachweis der Identität mit dem von Ladenburg[2]) erhaltenen Produkt gesichert, das bei der Reduktion von Trimethylencyanid entsteht.

$$N \equiv C.CH_2.CH_2.CH_2.C \equiv N + 8\,H = H_2N.CH_2.CH_2.CH_2.CH_2.CH_2.NH_2.$$

Eigenschaften[3]). 1. Das Pentamethylendiamin bildet eine farblose, syrupöse Flüssigkeit von eigentümlichem Spermageruch, raucht an der Luft, erstarrt in einer Kältemischung krystallinisch und schmilzt bei gewöhnlicher Temperatur wieder, siedet bei 178—179^0, destilliert mit Kalilauge sowie mit Natronkalk unzersetzt, ist optisch inaktiv, wenig giftig (entzündungserregend). Löst sich leicht in Wasser, schwer in Alkohol, sehr schwer in Äther.

2. Es ist eine zweisäurige Base. Es zieht begierig Kohlensäure an und erstarrt dabei krystallinisch. — Mit Salzsäure und mit Schwefelsäure bildet es krystallisierende Salze, welche in Wasser, Weingeist und Ätheralkohol löslich, in absolutem Alkohol und in reinem Äther unlöslich sind. Das Chlorhydrat $C_5H_{14}N_2 . 2\,HCl$ besteht aus Nadeln, welche an der Luft zerfliessen und bei 255^0 schmelzen (v. Braun); nach Gulewitsch krystallisiert das Salz aus Alkohol in sternförmig gruppierten Prismen, die an der Luft nicht zerfliessen. — Das Chloroplatinat $C_5H_{14}N_2$, H_2PtCl_6, rot-gelbe, vierseitige, an einem Ende zugespitzte Prismen, oder dem Platinsalmiak ähnliche Oktaeder, oder auch Nadelbüschel, nach Werigo glänzende braunrote Plättchen, ist schwer löslich (in 113 Teilen Wasser von 12^0). Es schwärzt sich bei 215^0 und schmilzt einige Grade höher unter Zersetzung (v. Braun). — Das Chloraurat (trocken) $C_5H_{14}N_2$, $2\,H\,AuCl_4$ bildet lange, stark glänzende, gelbe, im Exsiccator verwitternde Nadeln oder Würfel vom Schmelzpunkt 186—188^0 und ist leicht löslich. — Von Verbindungen mit Quecksilberchlorid sind drei

[1]) L. v. Udránszky und E. Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **15**. 80. 1890.
[2]) A. Ladenburg, Ber. d. chem. Gesellsch. 18. 2957. 1885.
[3]) A. Ladenburg, Ber. d. chem. Gesellsch. **16**. 1149. **18**. 2957 und 3100, **19**. 780 und 2586. **20**. 2217. — L. Brieger, Untersuchungen über Ptomaine **2**. 36. 1885. **3**. 24. 50. 54. 98. 1886. — Bocklisch, Ber. d. chem. Gesellsch. **18**. 1925. **20**. 1442 und 1445. — v. Udránszky und Baumann a. a. O. — J. v. Braun, Ber. d. chem. Gesellsch. **37**. 3587. 1904. — Wl. Gulewitsch, Zeitschr. f. physiol. Chemie. **20**. 287. 1894.

Digitized by Google

bekannt: $C_5H_{14}N_2$, 2 HCl, 2 $HgCl_2$; $C_5H_{14}N_2$, 2 HCl, 3 $HgCl_2$ und $C_5H_{14}N_2$, 2 HCl, 4 $HgCl_2$. Die erste entsteht nach Werigo aus dem Chlorid beim Behandeln desselben mit Quecksilberoxyd und einem Überschuss von Quecksilberchlorid, die zweite beim Vermischen einer wässerigen Lösung des Chlorids mit 4 Mol. Sublimat, die dritte bei Zusatz eines grösseren Überschusses von Quecksilberchlorid. Sie sind krystallinisch; die mit 4 $HgCl_2$ bildet farblose, lange Nadeln oder Plättchen, ist, wie die beiden anderen, in kaltem Wasser schwer, in heissem leicht löslich und schmilzt bei 214—216°; das Salz von Werigo bildet mikroskopische, weisse, glänzende Plättchen. Auch aus alkoholischer Lösung wird das salzsaure Cadaverin durch alkoholische Sublimatlösung gefällt. — Das Pikrat $C_5H_{14}N_2$, 2 $C_6H_2(NO_2)_3OH$, dünne, gelbe Nadeln oder langgestreckte Tafeln, schmilzt bei 221° unter Gasentwickelung und ist in Wasser fast unlöslich. — Das Pikrolonat $C_5H_{14}N_2$, 2 $C_{10}H_8N_4O_5$ entsteht wie das entsprechende Putrescinsalz und bildet Täfelchen oder Nadeln von orangegelber Farbe, die sich bei 220—250° zersetzen und in Wasser und Alkohol schwer löslich sind (Otori). — Das neutrale Oxalat $C_5H_{14}N_2 . C_2H_2O_4$, 2 H_2O bildet Nadeln und schmilzt bei 160°; das saure Oxalat $C_5H_{14}N_2 . 2\,C_2H_2O_4$, H_2O Plättchen vom Schmelzpunkt 143°. Beide Salze sind zwar in verdünntem Alkohol löslich, aber nicht in absolutem Alkohol und in Äther. — Ein Pentamethylendiammoniumcarbaminat lässt sich durch Einleiten von Kohlensäure in die ätherische Lösung der Base bei der Temperatur des Äther-Kohlensäuregemisches als flockiges Salz erhalten, das erst bei 10° klebrig wird (Peters[1])).

3. Die freie Base sowie das Chlorid geben ausserdem mit den gebräuchlichen Alkaloidreagentien Niederschläge.

Der Niederschlag der freien Base mit Phosphorwolframsäure ist weiss, im Überschuss löslich, mit Phosphormolybdänsäure weiss, krystallinisch, im Überschuss löslich, mit Phosphorantimonsäure weiss, krystallinisch, mit Kaliumquecksilberjodid harzig, mit Kaliumcadmiumjodid anfangs harzig, später in Krystallwarzen übergehend, mit Kaliumwismuthjodid und mit Jodjodkalium braun, mit Jodjodwasserstoff entstehen braune Nadeln, der Niederschlag mit Gerbsäure ist weiss, amorph. Kaliumplatinsulfocyanid fällt es nach Guareschi wie andere Amine auch. Metaphosphorsäure schlägt nach Schlömann[2]) das Pentamethylendiamin, wie die Diamine überhaupt, nieder.

Vom Chlorid hat der Niederschlag folgende Beschaffenheit: mit Phosphorwolframsäure weiss, im Überschuss leicht löslich, mit Phosphormolybdänsäure weiss, krystallinisch, mit Kaliumwismuthjodid rote Nadeln, mit Jodjodkalium und mit Jodjodwasserstoff braune Nadeln, mit chromsaurem Kali und konzentrierter Schwefelsäure rotbraun, bald verschwindend.

Eine Mischung von Ferricyankalium und Eisenchlorid wird durch die reine Base nicht blau gefärbt.

---

[1]) W. Peters, Ber. d. chem. Gesellsch. **40**. 1478. 1907.

[2]) Guareschi, Ber. d. chem. Gesellsch. **25**. R f. 7. 1892. — W. Schlömann, Ber. d. chem. Gesellsch. **26**. 1021. 1893.

Digitized by Google

4. Dibenzoyl-Pentamethylendiamin, $C_5H_{10}(NH \cdot CO \cdot C_6H_5)_2$ (v. Udránszky und Baumann), krystallisiert in langen Nadeln und Plättchen, schmilzt bei 130° nach Baumann, bei 135° nach v. Braun, löst sich leicht in Weingeist, fast gar nicht in Äther, so gut wie nicht in Wasser; die Gegenwart fremder Substanzen in diesen Lösungsmitteln (Benzoesäure in Äther, Salze in Wasser) erhöht die Löslichkeit des Diamins. Verdünnte Säuren und Alkalien verändern die Verbindung beim Kochen nicht. Konzentrierte Schwefelsäure löst die Verbindung leicht, und Wasser fällt sie wieder unverändert. Erst bei tagelangem Kochen (mit konzentrierter Salzsäure in alkoholischer Lösung) erfolgt Spaltung derselben. Sie entsteht durch Schütteln einer wässerigen Lösung der freien Base mit Benzoylchlorid und Natronlauge.

Auf 10 ccm Benzoylchlorid werden 80 ccm Natronlauge von 10 % verwendet. Der entstehende Niederschlag wird in Weingeist gelöst und die Lösung durch viel Wasser gefällt, wobei die Benzoylverbindung aus der zunächst milchigen Flüssigkeit auskrystallisiert. Es lassen sich so noch einige mg der Base nachweisen. Die Lösung der Base braucht dazu nicht rein zu sein.

5. Schüttelt man die alkalische Lösung des Cadaverins mit Benzolsulfochlorid, so entsteht sehr bald eine klare Lösung, aus der durch Säuren in theoretischer Ausbeute das Dibenzolsulfocadaverin $C_5H_{10}(NH \cdot SO_2 \cdot C_6H_5)_2$ als feines weisses Pulver gefällt wird, welches sich leicht in heissem, schwer in kaltem Alkohol löst und durch Umkrystallisieren aus Alkohol in farblosen, glänzenden Krystallen vom Schmelzpunkt 119° erhalten wird. Die Krystalle sind auch in verdünntem Alkali sehr leicht löslich (v. Braun).

6. Die Verbindung mit Phenylcyanat entsteht in gleicher Weise und Ausbeute wie beim Putrescin aus 1,02 g Cadaverin und 2,5 g Phenylcyanat. Auch im mikroskopischen Aussehen und den Löslichkeitsverhältnissen ähnelt sie der analogen Putrescinverbindung, nur die Löslichkeit in Pyridin ist etwas grösser (Loewy und Neuberg). Der Schmelzpunkt liegt bei 207—209°.

7. Beim Einbringen von 30 %iger Formaldehydlösung in 10 %ige wässerige Lösung von Cadaverin bewirkt jeder einfallende Tropfen die Abscheidung einer käseartigen, weissen Masse, die sich lederartig anfühlt, in den gebräuchlichen Lösungsmitteln unlöslich ist, sich beim Erhitzen von 200° an schwach gelb färbt, bei 235° sintert und bei 251° im geschlossenen Röhrchen geschmolzen ist. Die basische Verbindung hat die Zusammensetzung $(C_7H_{14}N_2)x$ und ist in Säuren löslich (Bischoff und Reinfeld).

8. Durch Einwirkung salpetriger Säure auf Cadaverin bildet sich ein Gemisch isomerer Verbindungen von den Formeln C_5H_8, $C_5H_{10}O$ und $C_5H_{12}O_2$. Vorherrschend sind in dem Gemisch die Körper mit endständigen Hydroxylen und Doppelbindungen $CH_2:CH.CH_2.CH:CH_2$, $CH_2:CH.CH_2.CH_2.CH_2.OH$ und $CH_2(OH).CH_2.CH_2.CH_2.CH_2.OH$; in geringeren Mengen sind die Verbindungen

Digitized by Google

$CH_3.CH : CH.CH : CH_2$, $CH_3.CH : CH.CH_2.CH_2OH$ und $CH_3.CH(OH).CH_2.CH_2.CH_2.OH$ vorhanden (Demjanow und Dojarenko)[1]).

9. Bei raschem Erhitzen zerfällt das Chlorhydrat in Salmiak und Piperidin (Ladenburg).

10. Nach Bolland[2]) gibt das Cadaverin folgende mikrochemische Reaktionen: Kaliumwismuthjodid liefert lange (100 μ Länge, 10 μ Breite), rote Nadeln. Nie waren Tafeln sichtbar. Die Stäbchen sind oft zusammengewachsen. Gerade Auslöschung. Die Krystalle sind wenig beständig. — Mit Platinchlorid: gelbe Krystalle, 30 μ Länge, 15 μ Breite. Gerade Auslöschung. — Mit Platinbromid: rote Krystalle, Grösse bis 30 μ; teils gerade, teils schiefe Auslöschung. Auslöschungswinkel 11°; seltene, zweiachsige Achsenbilder. — Mit Platinjodid: braunschwarze Krystalle, oft mit hellerem Rande. — Mit Jod-Jodkalium im Überschuss: braune Stäbchen, 10 μ Länge, 5 μ Breite, schwach polarisierend. — Mit Goldchlorid: grosse (bis 500 μ), dichroitische, gelbe Platten von rhombischem, sechsseitigem und trapezartigem Querschnitt, teils gerade, teils schiefe Auslöschung; Auslöschungswinkel 28°. — Mit Goldbromid: feurigrote Krystalle mit hexagonalem und kubischem Querschnitt. Die Sechsecke sind oft abgerundet, oft liegen sie aufeinander und verbinden sich zu Rosetten. Grösse 50 μ. Schiefer Winkel der Tafeln 88°. Teils gerade, teils schiefe Auslöschung; Auslöschungswinkel 13°. — Mit Goldjodid: schwarze, reguläre Sechsecke (25 μ) neben länglichen, charakteristischen Gebilden bis 500 μ Länge, 50 μ Breite. — Mit Phosphormolybdän- und Siliciumwolframsäure: mikrokrystallinischer, auch amorpher Niederschlag. — Mit Phosphorwolframsäure, Ferrocyankalium und Salzsäure, Uranylacetat: weisser, amorpher Niederschlag. — Mit Magnesiumacetat und Natriumphosphat: schiefe Tafeln neben amorphem Niederschlag. — Mit Palladiumchlorür: brauner amorpher Niederschlag. — Mit Pikrinsäure: gelbe, flache Platten, 500 μ Länge, 50 μ Breite, oft verwachsen. Schiefe Auslöschung, Auslöschungswinkel 14°. — Chloranil reagiert mit dem Tartrat nicht; nach Zugabe von Natronlauge scheiden sich grünlichblaue Niederschläge aus, die an den Chloranilblättchen hängen. Durch Zugabe von Alkohol erhält man spitze grüne Nadeln, die ein dickes Netz mit jenen braunen Nadeln geben, welche Natronlauge selbst mit Chloranil erzeugt. — Gerbsäure reagiert nicht.

11. Physiologisches Verhalten: Nach Fütterung von kleineren Mengen des Chlorhydrats an einen Hund (0,5—4 g) erschien nichts von der Base im Harn, nach grösseren Dosen (10 g des Acetats) wurde ein geringer Bruchteil unverändert im Harn gefunden. Die grosse Dose verursachte Erbrechen und Diarrhöe (v. Udránszky und Baumann). Nach Pohl[3]) bewirkt Cadaverin bei Kaninchen eine Hemmung mancher Synthesen im Körper des Kaninchens, namentlich einiger Paarungen mit Glykuronsäure.

B. Darstellung und Nachweis. a) Die Tagesmenge Harn (1500 ccm) wird nach v. Udránszky und Baumann[4]) mit 200 ccm Natronlauge von 10 % und 20—25 ccm Benzoylchlorid so lang ge-

[1]) Demjanow und M. Dojarenko, Bericht d. chem. Gesellsch. 40. 2589. 1907.

[2]) A. Bolland, Monatsh. d. Chem. 29. 965. 1908, dort Abbildungen.

[3]) L. v. Udránszky und E. Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 15. 77. 1890. — J. Pohl, Arch. f. exper. Path. u. Pharmak. 41. 97. 1898.

[4]) L. v. Udránszky und E. Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 13. 564. 1889.

Digitized by Google

schüttelt, bis der Geruch nach diesem verschwunden ist, wobei ein gelblich weisser Niederschlag von unlöslichen Phosphaten, sowie den Benzoylverbindungen der normalen Kohlenhydrate und des grösseren Teils der Diamine entsteht. Ein anderer, geringerer Teil der Diamine bleibt in der salzhaltigen Flüssigkeit in Lösung. Der Niederschlag wird mit Weingeist digeriert und das bräunliche Filtrat nach dem Verdunsten auf ein kleines Volumen in das etwa 30fache Volumen kalten Wassers gegossen, worauf sich die Benzoyldiamine in nadelförmigen Krystallen abscheiden. Nach ein- oder mehrtägigem Stehen wird der Niederschlag von der milchig trüben Flüssigkeit abfiltriert und so lange gewaschen, bis das Filtrat ganz klar abläuft. Die Trübung rührt von den Benzoylverbindungen der Kohlenhydrate her. Man löst dann nochmals in Weingeist und fällt wieder durch Wasser.

Um den in Lösung gebliebenen Anteil der Diamine zu gewinnen, säuert man den vom Benzoylniederschlag abfiltrierten Harn mit Schwefelsäure stark an und schüttelt ihn dreimal mit dem gleichen Vol. von gewöhnlichem (alkoholhaltigen) Äther. Dieser löst die durch die Schwefelsäure abgeschiedene Benzoesäure, das Benzoylcystin und die Benzoyldiamine. Von der Lösung wird der Äther abdestilliert, der Rückstand, bevor er erstarrt, in ungefähr soviel 12 %ige Natronlauge eingetragen, als zur Neutralisation erforderlich ist, die Flüssigkeit noch mit dem 3—4fachen Vol. derselben Lauge versetzt und in die Kälte gestellt. Es scheiden sich dann die Natriumverbindungen des Benzoylcystins und die Benzoyldiamine in langen Nadeln und Plättchen ab. Nach 12—24 Stunden saugt man die Mutterlauge von den Krystallen mit der Pumpe ab und wäscht die Krystalle mit wenig kalter Natronlauge. Wasser löst aus dem Gemenge das Benzoylcystin, die zurückbleibenden Benzoyldiamine werden in wenig warmem Weingeist gelöst und aus dieser Lösung durch viel Wasser gefällt.

Liegt ein Gemenge der Benzoylverbindungen beider Diamine vor, worüber der Schmelzpunkt Aufschluss gibt, so löst man die Krystalle in möglichst wenig warmem Weingeist und giesst die Lösung in das 20fache Volumen Äther, worauf die Benzoylverbindung des Tetramethylendiamins auskrystallisiert, die des Cadaverins in Lösung bleibt. Beim Verdunsten ihrer Lösung krystallisiert auch diese. Durch Umkrystallisieren aus Weingeist erhält man beide Verbindungen rein. Beide Verbindungen lassen sich so fast ohne Verlust trennen.

Die Fällbarkeit der Basen durch Benzoylchlorid ist eine sehr grosse; bei einer Verdünnung von 1 : 10 000 lässt sich das Cadaverin aus wässeriger Lösung fast vollständig gewinnen; aus einer Lösung von Putrescin in Harn gleicher Stärke erhielten v. Udránszky und Baumann 60% der Base wieder.

Bei der Benzoylierung des Harns kann sich in kleinen Mengen eine selbst in heissem Alkohol schwer lösliche, in farblosen Nadeln krystallisierende Substanz vom Schmelzpunkt 201—205° bilden (Garrod und

Digitized by Google

Hurtley), die nach Ellinger u. Riesser[1]) höchstwahrscheinlich mit Tribenzamid identisch ist.

Aus einer wässerigen Lösung der Basen erhält man bei 1 : 10 000 durch Pikrinsäure zwar nach einiger Zeit lange Nadeln der Pikrate, aus Harn aber so wenig, dass sich die Pikrinsäure zum Fällen der Basen aus Harn nicht eignet.

b) Stadthagen und Brieger[2]) haben sich noch eines anderen Verfahrens bedient. Der mit Salzsäure schwach angesäuerte und alsdann eingedampfte Harn wurde wiederholt mit Alkohol extrahiert, der Auszug mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und mit Quecksilberchlorid und Natriumcarbonat gefällt. Der Niederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff zerlegt und die als Chlorid in Lösung befindliche Base mit pikrinsaurem Natron als Pikrat gefällt. Nach Abtrennung des pikrinsauren Kreatinins und Kalis besass das Pikrat den Schmelzpunkt (221 °) und die Zusammensetzung des pikrinsauren Cadaverins.

Die Benzoylverbindungen werden als solche aus ihren sich schon bei der Darstellung ergebenden Löslichkeitsverhältnissen, ihren Schmelzpunkten und aus ihrer Zusammensetzung (mindestens Stickstoffbestimmung) erkannt. Liegen die Basen in anderer Form, und nicht in zu geringer Menge vor, so lassen sie sich nach Brieger noch in anderer Weise trennen und kennzeichnen.

Von den Sublimatverbindungen ist die des Putrescins in kaltem Wasser leicht löslich, die des Cadaverins schwer löslich. — Aus heissem 96 %igem Alkohol krystallisiert das salzsaure Putrescin beim Erkalten in Nadeln, während das salzsaure Cadaverin in Lösung bleibt und als Platinsalz weiter gereinigt werden kann. — Das Chloraurat des Putrescins ist ziemlich schwer löslich, das des Cadaverins dagegen leicht.

c) Loewy und Neuberg[3]) isolierten Cadaverin aus dem Harn ihres Cystinurikers nach Verabreichung von Lysin folgendermassen: Der vom ausgeschiedenen Cystin befreite Harn wurde schwach mit Schwefelsäure angesäuert und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Der ausgewaschene Niederschlag wurde mit Baryt zerlegt; nach Entfernung des Barytüberschusses durch CO_2 wurde eine optisch inaktive, stark alkalische Lösung erhalten. Sie wurde mit Natronlauge versetzt und tropfenweise Phenylcyanat zugegeben. Jeder Tropfen des einfallenden Cyanats hatte unter deutlicher Erwärmung die sofortige Abscheidung eines voluminösen Niederschlages zur Folge. Als sich der Niederschlag auf weiteren Zusatz nicht mehr vermehrte, wurde er abfiltriert. Die weitere Behandlung des Filtrats ergab keine weitere Abscheidung einer Diaminverbindung mehr. Der Niederschlag wurde in Pyridin gelöst, und aus der Lösung durch vorsichtigen Zusatz von Wasser in schneeweissen Krystallen wieder ausgefällt. Nach einmaliger Wiederholung der Umfällung hatten die Krystalle den richtigen Schmelzpunkt.

[1]) A. E. Garrod and W. H. Hurtley, Journ. of physiol. **34**. 221. 1906. — A. Ellinger und O. Riesser, Zeitschr. f. physiol. Chem. **62**. 271. 1909.
[2]) M. Stadthagen und L. Brieger, Berl. klin. Wochenschr. 1889. 345.
[3]) A. Loewy und C. Neuberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. **43**. 352. 1904.

Digitized by Google

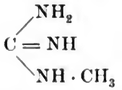
Zur Isolierung von Putrescin aus dem Harn des Cystinurikers, der Arginin erhalten hatte, gingen Loewy und Neuberg genau in der gleichen Weise vor. Nur erfolgte die Reinigung der Phenylcyanat-Verbindung durch Umkrystallisieren aus Pyridin-Alkohol.

Liegt ein Gemisch von Putrescin und Cadaverin vor, so ist nach Loewy und Neuberg[1]) eine Trennung beider durch die Phenylharnstoffderivate bis zu einem gewissen Grade ebenfalls möglich. Fügt man zu einer nach dem Abkühlen gerade gesättigten Lösung der trocknen Phenylcyanat-Verbindungen in Pyridin wasserfreies Aceton, so fällt momentan das Putrescin-Derivat aus, während die Cadaverinverbindung sich erst bei mehrstündigem Stehen aus dem Filtrat abscheidet. Beide Fraktionen können durch nochmaliges Umkrystallisieren dann gereinigt werden. Von anhaftendem Diphenylharnstoff können die Diamin-Derivate durch Auskochen mit Alkohol befreit werden.

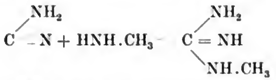
Basen bekannter Konstitution, die im normalen Harn in geringen Mengen vorkommen.

I. Methylguanidin.

$C_2H_7N_3$.



Synthetisch wurde Methylguanidin von Erlenmeyer durch Erwärmen von Cyanamid mit salzsaurem Methylamin in alkoholischer Lösung erhalten:



Nach M. Schenck[2]) ist das synthetische Produkt identisch mit dem durch Oxydation aus Kreatin (siehe S. 658) erhaltenen und mit der im Fleischextrakt und Harn aufgefundenen Base.

A. Vorkommen. Zuerst hat Achelis aus 30 Liter Harn gesunder Frauen 0,7 g Pikrolonat des Methylguanidins dargestellt; auch aus Hunde- und Pferdeharn isolierte er die gleiche Verbindung. Kutscher und Lohmann, sowie Engeland[3]) erhielten die Base

[1]) A. Loewy und C. Neuberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. **43**. 356. 1904.
[2]) E. Erlenmeyer, Ber. d. chem. Gesellsch. **3**. 896. 1870. — M. Schenck, Arch. f. Pharmacie. **247**. 466. 1909.
[3]) W. Achelis, Zeitschr. f. physiol. Chem. **50**. 10. 1907. — Kutscher und Lohmann, ebenda **49**. 81. 1906. — R. Engeland, ebenda **57**. 49. 1908.

Digitized by Google

ebenfalls aus Menschenharn nach anderen Methoden, Takeda aus dem Harn von Hunden nach Phosphorvergiftung und Kohlrausch nach Angabe von Heyde[1]) aus dem Harn verbrühter Tiere.

Es ist noch nicht klargestellt, woher das Methylguanidin des Harns stammt. Brieger entdeckte es unter den Fäulnisprodukten des Pferdefleisches, Hoffa fand es im Fleisch von Kaninchen, die mit Reinkulturen von Septikämiebakterien geimpft waren, Kutscher und Gulewitsch stellten es aus Fleischextrakt dar, und Krimberg[2]) zeigte, dass es auch im frischen Muskel fertig gebildet ist.

Da es im Pferdeharn reichlicher als im Menschenharn enthalten ist, so kann es nicht ausschliesslich aus dem Fleisch der Nahrung stammen. Nach Kreatinin-Aufnahme schieden sowohl Menschen als Hunde etwas mehr Methylguanidin aus als ohne Kreatiningaben, aber die Vermehrung betrug nur Centigramme nach Dosen von 16 und 50 g Kreatinin. Nach subkutaner Injektion von Methylguanidin wurden aus dem Harn eines Hundes etwas grössere Mengen eines Pikrolonats, wahrscheinlich eines Gemisches von Methyl- und Dimethylguanidinsalz, erhalten als in der Norm (Achelis). Dorner fand im Kaninchenharn nach subkutaner Injektion nichts von der Base wieder, während Pommerenig[3]) ohne genauere Angaben von unverändertem Übergang in den Harn spricht.

Nach Achelis muss das Methylguanidin „wohl als Vorstufe des beim Eiweissabbau im Körper gebildeten Kreatins aufgefasst werden und leitet sich als solche wahrscheinlich von Guanidin enthaltenden Komponenten des Eiweissmoleküls ab". Beweise für diese Annahme liegen indessen bisher nicht vor.

B. Eigenschaften. 1. Die freie Base stellt eine stark alkalisch reagierende, zerfliessliche Krystallmasse dar. Das Chlorhydrat krystallisiert im Vacuum zu derben, in Alkohol schwer löslichen Prismen (Brieger). Das Nitrat $C_2H_7N_3 . HNO_3$ scheidet sich beim Eindampfen der mit Salpetersäure neutralisierten Lösung der Base in Drusen von kleinen und breiten Täfelchen aus. Das in heissem Wasser leicht, in kaltem Wasser und in absolutem Alkohol wenig lösliche Salz schmilzt bei 155° ohne Zersetzung (Kutscher). — Das Pikrat $C_2H_7N_3 . C_6H_2 . (NO_2)_3 . OH$ krystallisiert aus Wasser in zwei Modifikationen, die beide den Schmelzpunkt 201,5° zeigen: entweder in eigelben, vier-,

[1]) K. Takeda, Pflügers Arch. **115**. 385. 1910. — M. Heyde, Zentralbl. f. Physiol. **25**. 441. 1911.

[2]) L. Brieger, Untersuchungen über Ptomaine III. 33. — Hoffa, Sitzungsber. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg 1889. S. 96, zit. nach Jahresb. f. Tierch., **19**. 472. — F. Kutscher, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussm. **10**. 528. 1903. — W. Gulewitsch, Zeitschr. f. physiol. Chem. **47**. 475. 1906. — R. Krimberg, ebenda **48**. 412. 1906.

[3]) G. Dorner, Zeitschr. f. physiol. Chem. **52**. 267. 1907. — E. Pommerenig, Hofm. Beitr. **1**. 564. 1902.

Digitized by Google

seltener sechseckigen, langen, sehr schmalen Tafeln, die gewöhnlich nadelförmige Aggregate bilden und Pleiochromismus (lichtgelb und lichtgelblich grün) zeigen, oder in orangefarbenen, kürzeren, viereckigen Tafeln, die lichtgelb oder dunkelgelb erscheinen. Die Modifikationen können beim Umkrystallisieren ineinander übergehen (Gulewitsch). — Das Pikrolonat $C_2H_7N_3 . C_{10}H_8N_4O_5$ ist in kaltem Wasser sehr schwer (0,025 : 100), in absolutem Alkohol schwer löslich (0,06 : 100). Es schmilzt unter Aufschäumen bei ca. 270°, nachdem es bei 225° eine olivgrüne Farbe angenommen hat (Achelis). Wheeler und Jamieson[1]) geben den Schmelzpunkt 291° an und bezeichnen die Krystalle als diamantartige Tafeln oder Blöcke. Ihr Methylguanidin war synthetisch durch Auflösen von bromwasserstoffsaurem Äthylpseudothioharnstoff in 33 %iger Methylaminlösung gewonnen.

Das Chloroplatinat $(C_2H_7N_3, HCl)_2 PtCl_4$ bildet orangerote, tafelförmige Krystalle vom Schmelzpunkt 194—195° (Schenck); Löslichkeit in Wasser 14,3 : 100. — Das Chloraurat $C_2H_7N_3 . HCl . AuCl_3$ scheidet sich aus der konzentrierten wässerigen Lösung des Chlorhydrats mit 30 %iger Goldchloridlösung erst ölig, dann in rhombischen Krystallen ab. Aus heisser, verdünnter Salzsäure umkrystallisiert, schmilzt es bei 198—200° (Brieger, Kutscher und Lohmann, Engeland). In reinem Wasser zersetzt es sich beim Erhitzen. Es löst sich leicht in Äther, schwer in Alkohol und in Wasser (Tatarinoff)[2]). — Das Platinsulfocyanat $(C_2H_7N_3 . CNSH)_2 Pt(CNS)_4$ erhält man durch Übergiessen von Nitrat mit einer 4 %igen wässerigen Lösung von Kaliumplatinsulfocyanat momentan krystallinisch. Aus Wasser umkrystallisiert, bildet es rote, glänzende, durchsichtige Säulen, die in kaltem Wasser schwer, in heissem Wasser und in Alkohol leicht löslich sind, beim Trocknen Glanz und Durchsichtigkeit verlieren und bei 175—180° schmelzen (Kutscher).

2. Das Chlorhydrat verbindet sich mit Phosphormolybdänsäure zu einem gelben, krystallinischen Niederschlage, mit Kaliumwismutjodid zu einem ziegelroten Pulver, mit Jodjodkalium und jodhaltiger Jodwasserstoffsäure zu öligen Tropfen. Alkoholisches Quecksilberchlorid fällt das Salz aus seiner konzentrierten Lösung, während wässerige Sublimatlösung keine Fällung hervorruft (Brieger). Gesättigte $HgCl_2$- und Natriumacetatlösung fällen ebenfalls (Engeland). Phosphorwolframsäure, Silbernitrat plus Barytwasser schlagen die Base nieder, Silbernitrat plus Ammoniak dagegen und Gerbsäure nicht (Kutscher[3]). Engeland).

3. Bolland[4]) gibt für eine Lösung von Methylguanidinnitrat mit einem Überschuss von Weinsäure folgende charakteristische, mikrochemische Reaktionen an: Mit Kaliumwismutjodid: anfangs mikrokrystallinischer Niederschlag, nachher entstehen besonders am Rande des Tropfens orangerote Tafeln, Nadeln bis

[1]) H. L. Wheeler and G. J. Jamieson, Journ. of biol. chem. 4. 115. 1908.

[2]) P. Tatarinoff, Über Methylguanidine verschiedenen Ursprungs. Inaug.-Diss. München 1879.

[3]) Kutscher, Zentralbl. f. Physiol. 19. 504. 1905.

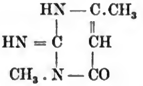
[4]) A. Bolland, Monatsh. f. Chem. 29. 965. 1908.

Digitized by Google

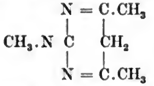
200 μ Länge, 10 μ Breite, teils gerade, teils schiefe Auslöschung. — Mit Goldchlorid: gelbe Stäbe, 400 μ Länge, 15 μ Breite, schiefe Auslöschung. Auslöschungswinkel 15°. — Mit Goldbromid: braunrote, längliche und quadratische Gebilde, 30 μ. Die länglichen löschen längs der Prismenkante aus, die quadratischen längs der Diagonale. — Mit Platinchlorid: gelbe, rechtwinklige Tafeln und Prismen, 70 μ Länge, 10 μ Breite. — Mit Platinbromid: roter, mikrokrystallinischer Niederschlag, Nadeln, gerade Auslöschung. — Mit Pikrinsäure: charakteristische Krystalle (Abbild. im Original), gelblichgrün, bis 500 μ Länge, 40 μ Breite; schiefe Auslöschung, Auslöschungswinkel 17°.

4. Erwärmt man 0,9 g Methylguanidinnitrat, in 10 ccm Wasser gelöst, mit 8 ccm 33%iger Natronlauge und 4 ccm Benzolsulfochlorid unter Umschütteln, so scheiden sich beim Abkühlen Krystalle von Benzolsulfomethylguanidin ab. Aus Wasser umkrystallisiert und mit Alkohol gewaschen, zeigen sie den Schmelzpunkt 184°; Löslichkeit in Wasser 0,04:100 (Ackermann)[1]. Die Reaktion kann zur Unterscheidung von Kreatinin dienen, das unter diesen Bedingungen keine schwer lösliche Verbindung bildet.

5. Äquivalente Mengen Methylguanidincarbonat und Acetessigester, mit dem dreifachen Gewicht absoluten Alkohols verdünnt, geben am Rückflusskühler im Paraffinbad auf 105—110° drei Stunden erhitzt, unter allmählicher CO_2-Abgabe weisse Krystalle von anderer Form als das Carbonat: Dimethylimidouracil



Aus heissem Wasser umkrystallisiert, schmilzt die Verbindung bei 312°, sie ist in den organischen Solventien unlöslich, in Säuren löslich, aus der Säurelösung durch Ammoniak fällbar, aber auch in starkem Alkali löslich. Behandelt man in der gleichen Weise Methylguanidincarbonat mit Acetylaceton und dampft nach einstündigem Erhitzen den grössten Teil des Alkohols ab, so scheiden sich glänzende lange Prismen von Acetylacetonmethylguanidin



ab, die nach Umkrystallisieren aus Petroläther bei 98° schmelzen. Sie riechen eigentümlich, sind sublimierbar und sehr beständig gegen konzentrierte Kalilauge (Majima[2]).

6. Physiologisches Verhalten. Die Base ist giftig. 0,01 g des schwefelsauren Salzes bewirkt beim Frosch charakteristische, fibrilläre Muskelzuckungen (Gergens und Baumann)[3]. Über Wirkungen auf Säugetiere siehe bei Brieger und Heyde, der ein dem anaphylaktischen Shock ähnliches Vergiftungsbild bei Meerschweinchen sah.

[1]) D. Ackermann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 48. 382. 1906.
[2]) R. Majima, Ber. d. chem. Gesellsch. 41. 176. 1908.
[3]) E. Gergens und E. Baumann, Pflügers Arch. 12. 205. 1876.

Digitized by Google

C. Darstellung und Nachweis. 1. Achelis[1]) benutzte zur Isolierung folgendes Verfahren, das sich an das Vorgehen von Kutscher und Lohmann anschliesst. Der Harn wurde möglicht frisch durch Kieselgur filtriert, mit Salzsäure stark angesäuert und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit 5%iger Schwefelsäure gut ausgewaschen und mit heissgesättigtem Barytwasser zersetzt. Der Überschuss von Baryt wurde durch Kohlensäure gebunden. Das Filtrat von Baryumcarbonat, das die kohlensauren Basen enthielt, wurde auf dem Wasserbade bis auf etwa 300 ccm eingedampft, mit Salpetersäure schwach angesäuert und mit einer 20 % igen Silbernitratlösung versetzt. Von den dadurch ausgefällten Alloxurbasen wurde abgesaugt und zu dem Filtrat so lange Silbernitrat hinzugegeben, bis es, gegen Barytwasser geprüft, sofort einen braunen Niederschlag hervorrief. Sodann wurde unter Kontrolle von ammoniakalischer Silbernitratlösung (s. unter B. 2.) mit kaltgesättigtem Barytwasser zunächst das Kreatinin als Silberverbindung ausgefällt, d. h. mit dem Zusatze von Barytwasser wurde so lange fortgefahren, bis ein Tropfen der gefällten Flüssigkeit, mit einem Tropfen der ammoniakalischen Silberlösung zusammengebracht, an der Berührungsstelle nur eine schwache Trübung erkennen liess. (Die ammoniakalische Silberlösung wird bereitet, indem man 2—3 ccm 10 % iger Silbernitratlösung mit Ammoniak versetzt, bis das ausfallende Silberoxyd sich eben wieder löst, und dann 1—2 Tropfen 10 % iger Ammoniaklösung zufügt.) Das Filtrat von dem ersten Silber-Barytniederschlag wurde so lange mit Baryt versetzt, bis keine weitere Fällung mehr eintrat. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mehrfach mit Wasser ausgewaschen, sodann mit Wasser verrieben, mit Schwefelsäure angesäuert und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Das Filtrat vom Schwefelsilber wurde auf dem Wasserbade vom Schwefelwasserstoff befreit, die Schwefelsäure durch Zugabe von Barytwasser gebunden und der Barytüberschuss durch Kohlensäure ausgefällt und abgesaugt. Das auf dem Wasserbad stark eingeengte Filtrat wurde mit verdünnter Schwefelsäure neutralisiert, von noch ausfallenden Spuren von Baryumsulfat filtriert und auf wenige ccm eingedampft. Die Flüssigkeit gab noch schwache Kreatininreaktion.

Um eine Fällung mit Pikrolonsäure zu erhalten, musste die Flüssigkeit nochmals mit Salpetersäure schwach angesäuert und der ganze Gang der Untersuchung mit der fraktionierten Silberfällung noch einmal wiederholt werden. Die nach der zweiten Behandlung erhaltene Lösung gab in der Regel keine deutliche Kreatininreaktion mehr; falls die Reaktion positiv ausfiel, so wurde die Behandlung noch einmal wiederholt.

[1]) W. Achelis, Zeitschr. f. physiol. Chem. 50. 10. 1906.

Digitized by Google

Die so erhaltene Lösung wurde mit gesättigter, wässeriger Pikrolonsäurelösung gefällt. Der gelbe, krystallinische Niederschlag wurde scharf abgesaugt, aus kochendem Wasser umkrystallisiert und durch Waschen mit wenig Wasser und Alkohol gereinigt.

30 Liter Frauenharn lieferten 0,7 g Pikrolonat, 14 Liter Menschenharn nach rein vegetarischer Kost 0,347 g, 11 Liter Hundeharn bei ebensolcher Nahrung 0,122 g, 10 Liter Pferdeharn 0,533 g.

2. Kutscher und Lohmann [1]) erhielten das Chloraurat des Methylguanidins aus den Mutterlaugen des Pyridinmethylchlorids und des Gynesins (s. u.), bezw. aus den Filtraten von ihren Chloroplatinaten.

3. Engeland [2]) isolierte das Chloraurat wie folgt:

Etwa 28 Liter Harn wurden auf freiem Feuer auf 1/3 des Volums eingedampft. Dann wurde bei ganz schwach saurer Reaktion mit 20 %iger Tanninlösung ausgefällt. Von dem gut abgesetzten Niederschlag wurde die klare Flüssigkeit dekantiert und mit Barytwasser vom überschüssigen Tannin, mit Schwefelsäure vom Baryt und mit Bleioxyd von der Schwefelsäure sowie den Resten des Tannins befreit. Die resultierende, dunkel gefärbte Flüssigkeit wurde mit heisser gesättigter Quecksilberchlorid- und Natriumacetatlösung ausgefällt. (Eine Probe des Filtrats darf mit einem Überschuss von kaltgesättigter Sublimatlösung auch nach längerem Stehen keinen Niederschlag mehr absetzen.) Nach einigem Stehen wurde die Fällung abgesaugt und mit kaltgesättigter Sublimat- und Natriumacetatlösung gewaschen. Dann wurde der Niederschlag mit heisser, verdünnter Salzsäure digeriert, vom Unlöslichen dekantiert und schliesslich abgesaugt. Das Filtrat wurde durch Einleiten von Schwefelwasserstoff vom Quecksilber befreit. Das Filtrat vom Schwefelquecksilber wurde auf dem Wasserbade eingedampft und der Rückstand mit Methylalkohol aufgenommen. Hierbei bleiben die anorganischen Beimengungen ungelöst zurück. Von ihnen wurde abfiltriert, das Filtrat eingedampft, der Rückstand mit heissem Wasser aufgenommen und durch Kochen mit reiner, mit verdünnter Salzsäure ausgekochter Tierkohle (Merck) energisch entfärbt. Die geklärte Flüssigkeit wurde zum Sirup eingeengt und mit Äthylalkohol aufgenommen, hierbei bleiben Ammonium- und Kreatininchlorid ungelöst zurück. Von ihnen wurde abfiltriert und das Filtrat aufs neue zum Sirup eingeengt und mit absolutem Alkohol aufgenommen.

Dieses Verfahren wurde so lange wiederholt, bis eine in kaltem absolutem Alkohol leicht lösliche Masse resultierte. Dann wurde die konzentrierte wässerige Lösung mit 30%iger Goldchloridlösung versetzt. Die reichliche krystallinische Fällung wurde abgesaugt, aus heisser verdünnter Salzsäure umkrystallisiert. Sie bestand aus reinem Chloraurat des Methylguanidins; Ausbeute: 2,1 g.

Die Methode scheint von den bisher angewandten die einfachste zur Isolierung der Base aus dem Harn zu sein. Durch Kontrollversuche überzeugte sich Engeland, dass bei dem angewandten Verfahren aus Kreatinin kein Methylguanidin gebildet wird.

Zur Identifizierung des Methylguanidins kann ausser den Schmelzpunkten des Goldsalzes, des Pikrats und des Pikrolonats und den mikrochemischen Reaktionen auch die Darstellung der Benzolsulfoverbindung, vielleicht auch eine der sub B. 5. angeführten Reaktionen dienen.

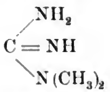
---

[1]) Kutscher und Lohmann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 49. 81. 1906.
[2]) R. Engeland, Ztschr. f. physiol. Chem. 57. 52. 1908.

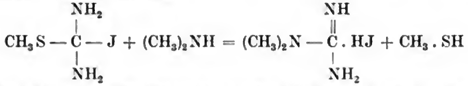
Digitized by Google

II. Dimethylguanidin.

$C_3H_9N_3$.



Das Jodmethylat der Base wurde synthetisch von Wheeler und Jamieson durch Einwirkung von Dimethylamin in 33%iger Lösung auf das Additionsprodukt aus Thioharnstoff und Jodmethyl (2-Methylpseudothioharnstoff-Jodhydrat) bei Zimmertemperatur erhalten.



Das Pikrolonat dieses asymmetrischen 2,2-Dimethylguanidins erwies sich identisch mit dem zwei Jahre vorher aus dem Harn dargestellten. Vor dieser Identifizierung hatten Kutscher und Lohmann die Konstitution richtig aus dem Umstand erschlossen, dass ihre Base von dem symmetrischen 1,2-Dimethylguanidin Schencks[1]) verschieden war.

A. Vorkommen. Nachdem Kutscher und Lohmann im Harn von Hunden, welche Fleischextrakt erhielten, Dimethylguanidin aufgefunden hatten, isolierte es Engeland auch aus normalem Menschenharn. Derselbe[2]) fand es auch im Harn eines Hundes, dem salzsaures Carnitin injiziert war.

B. Eigenschaften. Von der Base sind bisher nur folgende Salze beschrieben: 1. Das Pikrat $C_3H_9N_3$, $C_6H_3O_7N_3$: Die Lösung des Bromhydrats, die durch Auflösen von bromwasserstoffsaurem Äthylpseudothioharnstoff in Dimethylaminlösung gewonnen wird, gibt mit wässeriger Pikrinsäure einen krystallinischen Niederschlag, der aus Wasser umkrystallisiert, kleine, spitze, gelbe Prismen vom Schmelzpunkt 224° bildet (Wheeler und Jamieson) bzw. 230° (Schenck). 2. Das Pikrolonat $C_3H_9N_3$, $C_{10}H_8O_5N_4$, analog dargestellt, bildet kleine, flache, vierseitige, gelbe Prismen, die sich unter Aufschäumen scharf bei 278° zersetzten (Wheeler und Jamieson, Kutscher und Lohmann). 3. Das Chloraurat $C_3H_9N_3 . HAuCl_4$ bildet, aus heisser konzentrierter Salzsäure umkrystallisiert, bei langsamer Abscheidung grosse, gelbe Tafeln, bei raschem Auskrystallisieren glänzende, schuppenförmige Blättchen. Es schmilzt bei 244° und zersetzt sich etwa bei 250° (Riesser, mündliche Mitteilung). Die Angabe Engelands,

[1]) H. L. Wheeler and G. S. Jamieson, Journ. of biol. chem. **4**. 111. 1908. — M. Schenck, Zeitschr. f. physiol. Chem. **77**. 347. 1912. — Kutscher und Lohmann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **48**. 422. 1906. — M. Schenck, Arch. der Pharmacie **247**. 466. 1909.

[2]) R. Engeland, Zeitschr. f. physiol. Chem. **57**. 49. 1908. — Derselbe, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussm. **16**. 664. 1908.

Digitized by Google

der Schmelzpunkt liege bei 144°, beruht vielleicht auf einem Druckfehler. 4. Das Platinsalz $(C_3H_9N_3)_2H_2PtCl_6$ bildet Nadeln vom Zersetzungspunkt 225° (Schenck).

C. Darstellung. 1. Engeland versetzte 24 Liter Menschenharn mit einer kaltgesättigten Lösung von Quecksilberchlorid und Natriumacetat solange, als auf Zusatz unmittelbar ein Niederschlag entstand. Nach mehrtägigem Stehen wurde der Niederschlag abgesaugt und mit dem Gemisch der Fällungsmittel gut gewaschen, in heisse, verdünnte Salzsäure gebracht und längere Zeit auf dem Wasserbade digeriert. Hierbei ging der grösste Teil mit dunkelbrauner Farbe in Lösung, während sich das Unlösliche klar absetzte. Von diesem wurde dekantiert und schliesslich abgesaugt. Das Filtrat wurde mit Schwefelwasserstoff vom Quecksilber befreit und das Filtrat vom Schwefelquecksilber auf dem Wasserbad bis zur beginnenden Krystallisation eingeengt. Der beim Erkalten krystallinisch erstarrte Rückstand wurde mit Methylalkohol und absolutem Äthylalkohol zur Abtrennung der anorganischen Salze und eines Teils des Kreatininchlorhydrats behandelt, wie S. 699 beschrieben. Der in wenig Alkohol aufgenommene Sirup wurde mit alkoholischer Platinchloridlösung ausgefällt. (Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit absolutem Alkohol gewaschen, in heissem Wasser gelöst und mit Schwefelwasserstoff vom Platin befreit. Das Filtrat vom Platinsulfid wurde zum dünnen Sirup eingeengt und mit 30 %iger wässeriger Goldchloridlösung das Chloraurat des Kreatinins ausgefällt.) Das Filtrat der Platinfällung wurde abgedampft, mit heissem Wasser aufgenommen und mit Schwefelwasserstoff vom Platin befreit. Das Filtrat vom Platinsulfid wurde zum Sirup eingeengt und mit 30 %iger Goldchloridlösung versetzt. Nach längerem Stehen krystallisierte das Chloraurat des Dimethylguanidins aus, das aus heisser verdünnter Salzsäure umkrystallisiert wurde.

Auch aus 2 Liter Hundeharn isolierte Engeland nach der gleichen Methode 0,15 g des Chloraurats.

2. Kutscher und Lohmann fanden das Dimethylguanidin bei der Verarbeitung des Harns von Hunden, die Fleischextrakt erhalten hatten, in der zweiten Silberfällung (Kreatininfraktion, siehe S. 698), die sie durch Zusatz von Silbernitrat und Barytwasser unter Vermeidung eines Baryt-Überschusses erhalten hatten. Diese Silberfällung wurde in folgender Weise fraktioniert: Sie wurde, in Wasser aufgeschwemmt, mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Das Filtrat vom Schwefelsilber wurde stark eingeengt, mit Salpetersäure schwach angesäuert und das Kreatinin durch Silbernitrat und Barytwasser unter Kontrolle von ammoniakalischer Silberlösung der Hauptsache nach abgeschieden. Das Filtrat vom Kreatininsilber wurde nach Zugabe von etwas Silbernitrat mit Barythydrat gesättigt. Der neue Niederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt, das Filtrat vom Schwefelsilber, das noch Kreatininreaktion gab, zum dünnen Sirup eingeengt, in wenig Wasser gelöst, mit Schwefelsäure neutralisiert und mit gesättigter, wässeriger Pikrolonsäure gefällt. Das Pikrolonat wurde aus heissem Wasser umkrystallisiert.

Digitized by Google

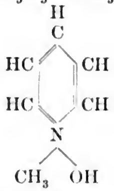
Kutscher und Lohmann sowohl wie Engeland[1]) fanden unter den nach verschiedener Vorbehandlung des Harns gewonnenen Goldsalzen auch eines aus Menschenharn, das sie als Chloraurat des Vitiatins bezeichnen. Vitiatin nennen die Autoren eine zweisäurige Base der Formel $C_5H_{14}N_6$, die Kutscher auch im Fleischextrakt gefunden hat.

Die Einheitlichkeit dieser Base scheint mir nicht genügend gesichert. Denn sie ist nur als Goldsalz isoliert. Das Goldsalz aber zeigt keinen scharfen Schmelzpunkt; es schmilzt vielmehr unscharf bei 167°, bei 190° erst wird die Schmelze klar. Die Analysenzahlen würden sich ebensogut erklären lassen, wenn ein Gemenge von Chlorauraten des Methyl- und Dimethylguanidins vorlägen. Dieser Verdacht findet eine weitere Stütze darin, dass bei der Aufarbeitung der Harne, die das Vitiatin liefern, niemals gleichzeitig Mono- und Dimethylguanidin, sondern nur Monomethylguanidin gefunden wurde, obwohl der normale Harn nach den Feststellungen derselben Autoren beide Homologe enthält.

Über die Isolierung eines Goldsalzes von Cholin (?) aus dem Harn eines Kranken mit Morbus Addisonii durch Marino-Zuco und Dutto s. S. 739.

III. Pyridylmethylammoniumhydroxyd.

$C_5H_5N \cdot CH_3 \cdot OH.$



Syn.: Methylpyridiniumhydroxyd, Pyridinmethyliumhydrat.

Das Chlorid der Base entsteht nach Ostermayer durch Erhitzen von mit Salzsäuregas gesättigtem Pyridin mit Methylalkohol auf 230°.

$$C_5H_5N.HCl + CH_3.OH = C_5H_5N.CH_3Cl + H_2O$$

oder durch Umsetzung von Pyridinjodmethylat mit Chlorsilber (Bally[2])).

A. Vorkommen. Die Base wurde von His aus dem Harn von Hunden, die essigsaures Pyridin per os erhalten hatten, als Chloro-

[1]) Kutscher und Lohmann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 51. 462. 1907. — Engeland, a. a. O. S. 56.

[2]) E. Ostermayer, Ber. d. chem. Gesellsch. 18. 591. 1885. — O. Bally, ebenda 21. 1772. 1888.

Digitized by Google

platinat isoliert. R. Cohn sowie Abderhalden, Brahm und Schittenhelm haben später diesen Befund für Hunde bestätigt, und die letzteren fanden, dass Kaninchen nicht imstande sind, das Pyridin zu methylieren. Dagegen wird im Organismus des Huhnes (Hoshiai), des Schweins und der Ziege (Totani u. Hoshiai) das Pyridin methyliert. Im normalen Menschenharn entdeckten Kutscher und Lohmann die Base und erkannten bald ihre Konstitution richtig, nachdem sie dieselbe anfangs für Neurin gehalten hatten, durch Vergleich des Goldsalzes mit dem der synthetisch von Ostermayer erhaltenen Verbindung. Auch im normalen Menschenharn ist die quaternäre Base nach der Ansicht von Kutscher und Lohmann[1]) als Umwandlungsprodukt des Pyridins, das in Genussmitteln, wie dem Kaffee und dem Tabakrauch, aufgenommen wurde, zu betrachten. Für diese Anschauung spricht einmal das Fehlen der Base im normalen Harn von Katzen und Hunden, ferner kommt sie reichlicher im Harn von Frauen (2,6 g Aurochlorat aus 100 Liter) als in dem nicht oder schwach rauchender Männer (0,17 g aus 10 Liter) vor, was auf die grössere Vorliebe der Frauen für den Kaffee zurückgeführt wird.

Die Base ist auch im Krabbenextrakt von Ackermann und Kutscher[2]) gefunden, und soll auch im Kaffeeextrakt vorkommen.

B. Eigenschaften. 1. Die Base selbst ist nicht dargestellt. Ihre wässerige Lösung ist eine leicht zersetzliche, stark alkalische Flüssigkeit, die sich schon beim Eindunsten im Exsiccator unter Bildung roter Schmieren zersetzt (Hantzsch und Kalb)[3]).

2. Pyridinmethylchlorid $C_5H_5N.CH_3Cl$ bildet weisse, zerfliessliche Nadeln und liefert gut krystallisierende Salze mit $AuCl_3$, $PtCl_4$, $HgCl_2$ und $FeCl_3$. — Das Pikrat $C_5H_5N.CH_3.O.C_6H_2.(NO_2)_3$ entsteht beim Stehen einer wässerigen Lösung des Chlorids mit überschüssiger, gesättigter Natriumpikratlösung. Es bildet gelbe Nadeln vom Schmelzpunkt 212°, die aus heissem Wasser umkrystallisiert werden können. 100 Teile Wasser lösen 1,092 bei Zimmertemperatur, 100 Alkohol 0,368, 100 Äther nur 0,017 Teile (Totani u. Hoshiai). — Das Aurochlorat $C_5H_5N.CH_3Cl.AuCl_3$ schmilzt aus stark salzsäurehaltigem Wasser mehrfach umkrystallisiert, bei 252° (Ostermayer, Kutscher und Lohmann). Es bildet hellgelbe Nadeln, in kaltem Wasser

[1]) W. His, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. 22. 253. 1887. — R. Cohn, Ber. d. chem. Gesellsch. 27. 2906. 1894. — E. Abderhalden, C. Brahm und A. Schittenhelm, Zeitschr. f. physiol. Chem. 59. 32. 1909. — Z. Hoshiai, Zeitschr. f. physiol. Chem. 62. 118, 1909. — G. Totani u. Z. Hoschiai, Zeitschr. f. physiol. Chem. 68. 83. 1910. — Kutscher u. Lohmann, Zeitschr. f. phys. Chem. 48. 5., 49. 83. 1906 u. Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussm. 13. 77. 1907.

[2]) D. Ackermann und F. Kutscher, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussm. 14. 687. 1907.

[3]) A. Hantzsch und M. Kalb, Ber. d. chem. Gesellsch. 32. 3117. 1899.

Digitized by Google

schwer, in heissem Wasser und Alkohol leicht löslich. — Das Chloroplatinat $(C_5H_5N.CH_3Cl)_2PtCl_4$ fällt aus der alkoholischen Lösung des Chlorids mit alkoholischer Platinchloridlösung. Nach Waschen mit Alkohol und Umkrystallisieren aus heissem Wasser bildet es breite glänzende, lachsfarbene Blättchen vom Schmelzpunkt 205° (Kutscher und Lohmann), bzw. 205—207° (Bally), 211° (R. Cohn), 203 bis 204° (Zincke u. Würker). — Das Doppelsalz mit Quecksilberchlorid $C_5H_5N.CH_3Cl.HgCl_2$ bildet, aus heissem Wasser umkrystallisiert, weisse Nadeln, die bei 189—191° unter Zersetzung schmelzen (Zincke und Würker). — Bringt man zur Lösung des Chlorids in verdünnter Salzsäure einen Überschuss von 20%iger Eisenchloridlösung und gibt so viel rauchende Salzsäure zu, dass eine bleibende Trübung entsteht, so scheidet sich nach einigen Stunden das Eisenchloriddoppelsalz $C_5H_5N.CH_3Cl.FeCl_3$ in gelben Nadeln aus, die sich im Überschuss des Fällungsmittels lösen. Das Salz wird in wenig Wasser gelöst und nochmals wie beschrieben gefällt und durch Trocknen im Vacuum über Kali von Salzsäure befreit (Scholtz)[1]. — Die Base fällt ferner mit Kaliumquecksilberjodid (His).

3. Mit Brom versetzt liefert das Chlorid Blättchen der Zusammensetzung $C_5H_5N.CH_3Br, Br_2$, vom Schmelzpunkt 82—83° (Trowbridge und Diehl)[2], die an der Luft Brom verlieren und beim Erwärmen mit wässeriger Pikrinsäure in das Pikrat $C_5H_5N.CH_3.O.C_6H_2.(NO_2)_3 + {}^1/_2H_2O$, lange, dicke, grünlichgelbe Nadeln vom Schmelzpunkt 34°, übergehen (Ostermayer). Dieses beim Erhitzen stark explosive Salz entsteht auch direkt beim Mischen einer heissen Pikrinsäurelösung mit dem Chlormethylat.

4. Physiologisches Verhalten. Die Base wird von Katzen und Kaninchen unverändert ausgeschieden (Kohlrausch)[3]. Dosen von 1—1,5 g wirken tödlich.

C. Darstellung. 1. Nach Kutscher und Lohmann werden grössere Mengen Harns (wenigstens 10 Liter) durch mit Kieselgur bedeckte Filter gesaugt, dann stark mit Salzsäure angesäuert und mit Phosphorwolframsäure ausgefällt. Die Fällung wird nach 24 Stunden abgesaugt. Aus ihr werden in der üblichen Weise die kohlensauren Basen dargestellt, deren Lösung man bei mässiger Temperatur stark einengt. Es krystallisieren Kreatin und Kreatinin aus. Von diesen Körpern saugt

[1]) Bally, a. a. O. — R. Cohn, Zeitschr. f. physiol. Chem. **18**. 116. — Th. Zincke und W. Würker, Liebigs Ann. d. Chem. **341**. 365. 1905. — M. Scholtz, Arch. der Pharm. **247**. 534. 1909.

[2]) P. F. Trowbridge and O. C. Diehl, Journ. of the Amer. Chem. Soc. **19**. 558. 1897.

[3]) A. Kohlrausch, Zentralbl. f. Physiol. **23**. 143. 1909.

Digitized by Google

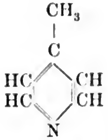
man ab und übersäuert das Filtrat mit Salzsäure. Die Lösung der Chloride wird auf dem Wasserbad zum Sirup eingeengt, den man mit Alkohol aufnimmt. Die alkoholische Lösung wird verdunstet, der Rückstand von neuem mit Alkohol aufgenommen und so oft dem gleichen Verfahren unterworfen, bis er sich auch in kaltem absolutem Alkohol des Handels glatt löst. Die alkoholische Lösung wird mit 20 %iger alkoholischer Platinchloridlösung ausgefällt. — Die Platinate werden nach 24—48 Stunden abgesaugt, mit Alkohol gewaschen, in Wasser gelöst und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Die Lösung der Chloride wird zum Sirup eingeengt, den man mit absolutem Alkohol aufnimmt. Man fällt die alkoholische Lösung nochmals mit 20 %iger alkoholischer Platinchloridlösung. Die zweite, wesentlich geringere Platinfällung, die völlig oder fast frei von Kreatinin ist, wird wie die erste wieder in die Choride verwandelt und der Sirup der Chloride mit 30 %iger wässeriger Goldchloridlösung ausgefällt. Nach wenigen Tagen saugt man die abgeschiedenen Goldsalze ab und krystallisiert aus siedendem, salzsäurehaltigem Wasser um. Engt man die Lösung bei 70° ein, so scheiden sich schon in der Wärme die in Wasser ausserordentlich schwer löslichen Krystalle des Goldsalzes von Pyridinmethylchlorid ab, die sich leicht von den anderen Auraten trennen und durch Umkrystallisieren aus heissem, salzsäurehaltigem Wasser reinigen lassen.

2. His fällte den Harn der mit Pyridin gefütterten Hunde mit Bleiacetat, dann mit Bleiessig und Ammoniak, entfernte im Filtrat das Blei mit Schwefelsäure und versetzte die vom Blei befreite Lösung mit Kaliumquecksilberjodid. Der dichtflockige, allmählich krystallisierende Niederschlag wurde mit Schwefelsäure und Silberoxyd zersetzt, das Filtrat mit Baryt gefällt und der Barytüberschuss durch Kohlensäure entfernt. Die wässerige, mit Salzsäure neutralisierte Lösung der Base wurde eingedampft, mit Alkohol aufgenommen und als Platinsalz gefällt.

Ähnlich verfuhren auch Abderhalden, Brahm und Schittenhelm.

IV. 4-Methylpyridin.

C_6H_7N.



Syn. γ-Picolin.

A. Vorkommen. Achelis und Kutscher[1]) isolierten aus Pferdeharn das Goldsalz einer Base, das sie auf Grund der Analysen-

[1]) W. Achelis und F. Kutscher, Zeitschr. f. physiol. Chem. 52. 91. 1907.

resultate und des Schmelzpunktes als γ-Picolin ansprachen. Als Muttersubstanzen betrachten die Autoren Pflanzenalkaloide des Futters, die den Pyridinring enthalten und im Organismus des Pferdes bis zum widerstandsfähigen γ-Picolin abgebaut werden.

B. Eigenschaften. γ-Picolin aus Steinkohlenteer ist eine in Wasser, Alkohol und Äther leicht lösliche Flüssigkeit von charakteristischem Geruch, die bei 142,5—144,5° (korr.) siedet. Mit den meisten Säuren bildet sie zerfliessliche, zur Analyse ungeeignete Salze (Ladenburg). — Das Chloroplatinat $(C_6H_7N, HCl)_2 PtCl_4$, orangegelbe Blättchen, schmilzt bei 231° unter Zersetzung, bzw. 235—237° oder 239—240°, je nach der Schnelligkeit des Erhitzens (Gabriel und Colman)[1]), und ist in kaltem Wasser schwer löslich. — Das Chloraurat $C_6H_7N . HCl . AuCl_3$, in Wasser sehr schwer löslich, krystallisiert aus heissem Wasser in stark glänzenden Prismen vom Schmelzpunkt 205°. Achelis und Kutscher fanden für das Goldsalz aus dem Harn 201°. — Das Quecksilber-Doppelsalz C_6H_7N, HCl, $2 HgCl_2$ krystallisiert in weissen, derben Nadeln vom Schmelzpunkt 128—129°, ist in kaltem Wasser schwer, in heissem Wasser und in stark sauren Lösungen leicht löslich. — Das in kaltem Wasser schwer lösliche Pikrat $C_6H_7N . C_6H_2(NO_2)_3 . OH$ krystallisiert aus heissem Wasser in seideglänzenden, büschelförmig gruppierten Nadeln. Schmelzpunkt 167° (Ladenburg), 163—164° (Gabriel und Colman).

C. Darstellung. 10 Liter Pferdeharn wurden bis zur Fällung mit Silbernitrat und Barytwasser so behandelt, wie unter C. 1. bei Methylguanidin beschrieben ist. Die Silberverbindungen wurden abgesaugt, das Filtrat durch Salzsäure vom Silber, durch Schwefelsäure vom Baryt befreit, mit Schwefelsäure stark angesäuert und der Rest der Basen von neuem mit Phosphorwolframsäure gefällt. Aus der Fällung wurden die kohlensauren Basen in der üblichen Weise erhalten, ihre Lösung zur Beseitigung der letzten Reste Baryt stark eingedampft, mit Salzsäure angesäuert und bis zur beginnenden Krystallisation eingeengt. Die Chloride wurden so lange mit heissem absolutem Alkohol wiederholt extrahiert und verdampft, bis ein in heissem absolutem Alkohol glatt löslicher Rückstand resultierte. Die alkoholische Lösung dieses Rückstandes wurde mit 20 %iger alkoholischer Platinchloridlösung gefällt. Die Fällung floss allmählich zu einem Sirup zusammen, von dem nach 48 Stunden die Mutterlauge abgegossen wurde. Der Niederschlag wurde nach mehrfachem Waschen mit absolutem Alkohol in der üblichen Weise zersetzt und der Sirup der Chloride mit 30 %iger wässeriger Goldchloridlösung gefällt. Die abgeschiedenen Goldverbin-

[1]) A. Ladenburg, Lieb. Ann. d. Chem. 247. 10. 1888. — S. Gabriel und J. Colman, Ber. d. chem. Gesellsch. 35. 2850. 1902.

dungen wurden nach mehrtägigem Stehen durch Abgiessen von der Mutterlauge getrennt, in heissem salzsäurehaltigem Wasser gelöst und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Der Sirup der erhaltenen Chloride wurde mit absolutem Alkohol aufgenommen und mit alkoholischer Sublimatlösung gefällt und der Niederschlag mit dem Fällungsmittel gewaschen. Die gefällten Quecksilberverbindungen wurden abermals in die Chloride übergeführt und der Sirup der Chloride zum zweiten Male mit Goldchlorid gefällt. Das nunmehr ausfallende Goldsalz krystallisierte schnell und gab, aus heissem salzsäurehaltigem Wasser zweimal umkrystallisiert, die erwähnten derben, glänzenden Nadeln des Goldsalzes vom Schmelzpunkt 201 ° und der Zusammensetzung $C_6H_7N . HCl . AuCl_3$.

Aus normalem Harn isolierte Basen von unbekannter Konstitution.

I. Substanz von Baumstark.

Eine dem Allantoin in analytischer Hinsicht sehr ähnliche Verbindung, $C_3H_8N_2O$, ist von F. Baumstark[1]) im Harn aufgefunden worden.

A. Vorkommen. In 40 Liter Menschenharn fand sich nur soviel, dass die Anwesenheit der Verbindung dargetan werden konnte; in beträchtlicherer Menge wurde sie bei Ikterus nachgewiesen, unter einer grösseren Reihe von Fällen aber nur einmal. Im normalen Hundeharn wurde sie nicht angetroffen, aber einmal kurze Zeit im Harn eines Hundes, der Benzoësäure zu seinem Futter erhielt.

B. Eigenschaften. Sie krystallisiert aus Wasser in weissen, der Hippursäure gleichenden Säulen. Die über Schwefelsäure getrockneten Krystalle dekrepitieren beim Erwärmen, bleiben bis 250 ° unverändert, stossen in höherer Temperatur dicke, weisse Dämpfe von eigentümlichem Geruch aus, schmelzen dann und verbrennen endlich unter dem Geruch nach verbranntem Horn.

Die Substanz löst sich ziemlich leicht in heissem Wasser, schwer in kaltem Wasser und in Weingeist, nicht in absolutem Alkohol oder Äther; die Lösungen reagieren neutral.

Sie bildet mit Säuren leicht lösliche Salze. Die Verbindung mit Salzsäure, $C_3H_8N_2O$. HCl, krystallisiert schwer in dendritenförmigen Massen, ist zerfliesslich und löst sich in Weingeist. Mit Basen verbindet sich die Substanz nicht, ihre wässerige Lösung gibt aber mit salpetersaurem Quecksilberoxyd einen Niederschlag.

Beim Erhitzen im Glasrohr entwickelt die Substanz ein brennbares, nach Äthylamin riechendes Gas, ebenso beim Erhitzen mit Natronkalk. Beim Kochen mit Barytwasser gibt sie zuerst die Hälfte ihres Stickstoffs als Ammoniak ab, dann den Rest als Äthylamin; zurück bleibt kohlensaurer Baryt.

Bei der Behandlung des Körpers mit salpetriger Säure liefert er Fleischmilchsäure.

C. Darstellung. Die Substanz wurde nach folgendem Verfahren gewonnen. Der Harn wurde zum dicken Sirup verdunstet, noch warm mit absolutem Alkohol ausgefällt, vom Filtrat der Alkohol vollständig abdestilliert und der Destillationsrückstand durch starkes Ansäuern mit Salzsäure und Schütteln mit Äther von

[1]) F. Baumstark, Ber. d. chem. Gesellsch. **6**. 883 und 1378; Ann. d. Chem. **173**. 342. 1874.

Digitized by Google

der Hippursäure befreit. Darauf wurde die rückständige Flüssigkeit mit Ammoniak übersättigt, mit Bleiessig vollständig ausgefällt, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff behandelt und zum dicken Sirup eingedampft. Es krystallisierte dann der Harnstoff mit der Substanz aus. Die Krystallmasse wurde mit soviel starkem Alkohol versetzt, dass eine leicht filtrierende Harnstofflösung entstand, diese Lösung abfiltriert, die rückständigen Krystalle mit Alkohol gut ausgewaschen und unter Zusatz von etwas Tierkohle aus heissem Wasser krystallisiert.

II. Substanz von Meissner.

G. Meissner [1]) fand im Harn von Hunden, welche mit Brot gefüttert wurden, bei Abwesenheit von Harnsäure neben reichlich ausgeschiedenem Allantoin noch einen besonderen Körper.

Derselbe schied sich bei der Verarbeitung des Harns nach der von Meissner angegebenen Methode der Allantoindarstellung aus dem Alkoholextrakt auf Zusatz von Äther zugleich mit dem Allantoin in schönen farblosen Warzen von seidenglänzenden Krystallnadeln (vierseitigen Prismen) aus. Er löste sich leicht in Wasser, löste sich auch in siedendem Alkohol und schied sich beim Stehen der Lösung wieder aus. Die wässerige Lösung des aus Alkohol umkrystallisierten Körpers reagierte neutral. Er löste sich in verdünnter Salzsäure, sowie in verdünnter kalter Salpetersäure und krystallisierte aus diesen Lösungen wieder unverändert aus.

Die Substanz war stickstoffreich, aber frei von Schwefel, schmolz bei ungefähr 150° zu einer gelben Flüssigkeit, welche bei 105—106° wieder zu den ursprünglichen Krystallen erstarrte. Bei 200° entwickelte die geschmolzene Masse Gasbläschen unter Verbreitung eines intensiven Geruchs nach Hundeharn, bei weiterem Erhitzen schwärzte sich der Rückstand, stiess dicke, weisse Nebel aus und verbrannte endlich schnell ohne Asche.

Wurde die Substanz mit Salpetersäure erhitzt, so zersetzte sie sich unter Gasentwickelung und hinterliess dann ein in Blätterbüscheln krystallisierendes Produkt. — Beim Kochen des Körpers mit Barytwasser bildete sich kohlensaurer Baryt und, wie es schien, eine Säure.

III. Verbindung von Pouchet.

Pouchet [2]) hat zuerst aus dem normalen Harn eine krystallinische Verbindung der Formel $C_7H_{12}N_4O_2$ oder $C_7H_{14}N_4O_2$ isoliert.

Die bei der Verarbeitung des Harns auf die Xanthinbasen bleibende Mutterlauge, aus welcher durch ammoniakalische Silberlösung das Carnin gefällt worden war, wurde auf dem Wasserbade vom Ammoniak befreit und in Wasserbadwärme mit Schwefelwasserstoff behandelt. Das Filtrat wurde auf dem Wasserbad zum Sirup verdunstet, dann zwei oder dreimal mit Alkohol und etwas Schwefelsäure eingedampft, um alle Salze in Sulfate überzuführen und zugleich die flüchtigen Säuren (Salzsäure, Essigsäure) als Ester zu entfernen. Die wieder zum Sirup eingedampfte Flüssigkeit wurde darauf mit 15—20 Vol. 95%igem Alkohol versetzt; der entstehende Niederschlag enthält alle Salze neben etwas Kreatin und Kreatinin und manchmal auch Tyrosin. Bei dem Versuch, der Salzmasse das Kreatin und Kreatinin durch siedenden 50%igen Alkohol zu entziehen, wurde auch ein Alkaloid in kleiner Menge gewonnen.

Das Alkaloid krystallisiert im Vacuum langsam in dünnen, sehr zerfliesslichen Nadeln, löst sich wenig in Alkohol, nicht in Äther, reagiert schwach alkalisch und gibt mit Säuren krystallisierende Salze. Das Chlorhydrat bildet konzentrisch gruppierte Nadeln und gibt mit Platinchlorid, Goldchlorid und Quecksilberchlorid

[1]) G. Meissner, Zeitschr. f. rat. Med. (3) **31**. 317.

[2]) A. Gabr. Pouchet, Contrib. à la conn. des mat. extract. de l'urine. Paris 1880. S. 19.

Digitized by Google

zerfliessliche, aber in Alkohol und Äther unlösliche Verbindungen. Das Chlorid gibt ferner mit Nesslerschem Reagens einen gelblich weissen Niederschlag, reduziert aber das Reagens nicht und unterscheidet sich so vom Kreatinin; es liefert ferner mit Jodjodkalium einen braungelben Niederschlag. — Das Chloroplatinat besteht aus goldgelben, orthorhombischen Prismen. — Das Chloraurat krystallisiert in kanariengelben, langen Nadeln und löst sich sehr leicht in Wasser.

Gautier[1]) fügt dieser Beschreibung der Basis hinzu, dass sie eine Mischung von Eisenchlorid und Ferricyankalium sehr schnell blau färbt (Bouchardatsche Reaktion), und dass sie giftig ist.

In der Fortsetzung dieser Untersuchungen ist es Pouchet[2]) gelungen, von zwei aus normalem Harn gewonnenen Basen die Zusammensetzung zu ermitteln.

Er fällte die Basen mit Tannin im Überschuss aus schwach alkalischer Lösung und zerlegte die Niederschläge mit Bleihydrat in Gegenwart erst von starkem, dann von schwachem Alkohol. Die alkoholischen Lösungen lieferten einen Sirup, der durch Dialyse in einen schwer dialysierbaren, flüssigen und in einen krystallinische Substanzen enthaltenden Anteil zerlegt wurde.

Der flüssige Anteil ist syrupös, krystallisiert selbst bei langem Verweilen im trockenen Vakuum nicht, reagiert neutral, gibt mit den allgemeinen Alkaloidreagentien Niederschläge, verändert sich ziemlich leicht an der Luft, wird durch Salzsäure verharzt und durch Platinchlorid schnell oxydiert. Er besitzt immer die Zusammensetzung $C_3H_5NO_2$.

Aus dem leicht dialysierbaren Teil wurde eine Substanz isoliert, welche in spindelförmigen, zu Kugeln geordneten Nadeln krystallisiert, sich in schwachem Alkohol löst, in starkem Alkohol fast unlöslich, in Äther ganz unlöslich ist, schwach alkalisch reagiert und mit Säuren Salze bildet. Das Chloroplatinat krystallisiert in goldgelben, orthorhombischen, zerfliesslichen Prismen. Der Basis selbst kommt die Formel $C_7H_{12}N_4O_2$ oder $C_7H_{14}N_4O_2$ zu.

Diese Stoffe sind für Frösche sehr giftig, sie bewirken Paralyse, Aufhebung der Reflextätigkeit und Herzstillstand in Systole. Pouchet hält es für wahrscheinlich, dass die im normalen Harn (in den Fäces und in den Exkreten überhaupt) vorkommenden alkaloidartigen Körper mit den bei der Fäulnis unter Luftabschluss aus Eiweisskörpern entstehenden identisch oder doch nahe verwandt sind.

IV. Die Base $C_7H_{15}NO_2$ (bezw. $C_7H_{17}NO_2$) (Dombrowski und Kutscher und Lohmann).

Dombrowski beschreibt kurz eine Base aus dem Harn, deren Chlorhydrat in Alkohol löslich ist und mit Platinchlorid ein in kaltem Wasser ziemlich leicht lösliches Salz gibt. Die Base hat nach der Analyse des Platinsalzes die Zusammensetzung $C_7H_{15}NO_2$. Sie kommt in der betreffenden Fraktion mit einer anderen, unaufgeklärten Base gemischt vor. Die Chloroplatinate werden durch fraktionierte Krystallisation getrennt; das leichter lösliche Platinsalz der Base $C_7H_{15}NO_2$ scheidet sich in farnkrautähnlichen Krystallen aus. Eine Base der gleichen Zusammensetzung haben E. und H. Salkowski als Platinsalz unter den Fäulnisprodukten von Fleisch und Fibrin gefunden, und

[1]) A. Gautier, Journ. de l'anat. et de la physiol. 1881. 330; Virchow-Hirsch's Jahresber. 1881. 1. 126.

[2]) Pouchet, Comptes rendus 97. 1560. 1883.

Digitized by Google

eine vielleicht um zwei Wasserstoffatome reichere, vielleicht aber gleich zusammengesetzte Base hat Brieger[1]) ebenfalls aus faulem Fleisch als Goldsalz isoliert. Ob die Base von Dombrowski mit dem von Takeda aus dem Harn mit Phosphor vergifteter Hunde isolierten γ-n-Butyrobetain (siehe dieses) identisch ist, lässt sich bei den wenigen Angaben, die Dombrowski über seine Verbindung macht, nicht entscheiden.

Die recht komplizierte Isolierungsmethode Dombrowskis war die folgende: 100 Liter normalen Harns werden mit Kaliumcarbonat neutralisiert und mit Bleiacetat gefällt. Das Filtrat wird mit Kaliumcarbonat von Blei befreit, neutralisiert, im Vacuum eingeengt und der Rükstand mit Alkohol von 80 ° in der Kälte aufgenommen. Vom Rückstand (A) wird die Lösung (B) abfiltriert. — Die alkoholische Lösung (B) wird im Vacuum destilliert; der Destillationsrückstand wird mit Wasser aufgenommen und mit Schwefelsäure versetzt, um die gebildeten Acetate in Sulfate umzuwandeln. Die filtrierte Flüssigkeit wird im Vacuum eingedampft und der Rückstand wieder mit Alkohol von 80 ° in der Kälte erschöpfend ausgezogen. Die alkoholische Lösung wird im Vacuum eingeengt, und zur Entfernung der Hauptmenge Harnstoff lässt man sie mehrmals erstarren (congeler). Die Mutterlaugen vom Harnstoff versetzt man in wässeriger Lösung mit neutralem Quecksilberacetat bei Gegenwart von Kaliumcarbonat, bis der Niederschlag einen gelben Farbenton annimmt. Im Filtrat entfernt man das Quecksilber durch Schwefelwasserstoff, wandelt die Acetate wieder in Sulfate um und konzentriert im Vacuum, um die Essigsäure zu verjagen. Das Konzentrationsprodukt wird wieder wie oben mit Alkohol extrahiert und die alkoholische Lösung im Vacuum zum dünnen Sirup eingeengt (Alkoholextrakt C), der in Wasser gelöst und mit Barytwasser gefällt wird. Das alkalisch reagierende Filtrat zeigt einen faden Geruch nach Aminen. Es wird im Vacuum bei niedriger Temperatur zur Sirupkonsistenz eingedampft. Der barythaltige Sirup wird mit viel Alkohol von 95 ° durchgeknetet, wobei ein pechartiger Rückstand (β) zurückbleibt. Der in Alkohol lösliche Anteil (α), sowie der Rückstand (β) werden mit Schwefelsäure vom Baryt befreit und mehrere Tage, gegen Fäulnis geschützt, dialysiert. Die vereinigten Dialysate werden im Vacuum bis zu beginnender Krystallisation konzentriert. Man trennt die Krystalle von der syrupösen Mutterlauge und teilt diese durch Behandeln mit kaltem absolutem Alkohol in einen alkohollöslichen Teil αα und einen unlöslichen αβ.

Der lösliche Teil αα wird konzentriert und der Kristallisation überlassen. Von einem aus Mannit bestehenden krystallinischen Niederschlag wird abgetrennt und der Syrup mit einem geringen Überschuss von Kupfercarbonat bei 60—70° digeriert. Man filtriert warm, konzentriert das Filtrat im Vacuum und scheidet durch Behandeln mit absolutem Alkohol einen flockigen Niederschlag ab, der abzentrifugiert wird. Der alkohollösliche Teil (αα—a), der Alkaloide, Phenole und reduzierende Substanzen enthält, wird vom Kupfer befreit, zum Syrup eingeengt und mit Barythydrat alkalisch gemacht. Die freigemachten Basen sind zum Teil in Äther, der wenig Alkohol enthält, zum Teil in Alkohol löslich und werden so getrennt. Aus der ätherischen Lösung werden Platinsalze gefällt, die durch fraktionierte Krystallisation getrennt werden. Der grössere Teil besteht aus dem Chloroplatinat des Cadaverins (s. S. 688). Das alkoholische Extrakt wird, da es noch Phenole enthält, mit Phosphormolybdänsäure gefällt. Aus dem Niederschlag werden in der üblichen Weise die Basen bezw. ihre Carbonate erhalten. Die konzentrierte Lösung wird mit Alkohol extrahiert, die Basen

[1]) St. Dombrowski, Arch. Polon. de biol. et d. med. 1893; auch Compt. rend. Acad. d. Scienc. 135. 182 u. 244. 1902. — E. und H. Salkowski, Berichte d. chem. Gesellsch. 16. 1192. 1883. — L. Brieger, Über Ptomaine III. 27. Berlin 1886.

Digitized by Google

in die Chlorhydrate verwandelt und deren alkoholische Lösung mit Platinchlorid gefällt. Die Chloroplatinate werden durch fraktionierte Krystallisation aus Wasser getrennt.

Anscheinend die gleiche Verbindung wie Dombrowski isolierten Kutscher und Lohmann zunächst aus dem Harn eines mit Fleischextrakt gefütterten Hundes, dann aus dem Harn von normalen Menschen, später Engeland[1]) aus dem Harn von Kaninchen nach Fütterung von salzsaurem Carnitin. Sie fanden das Goldsalz in der Mutterlauge des Goldsalzes vom Pyridinmethylchlorid, das nach dem S. 706 beschriebenen Verfahren dargestellt war. Es schied sich zunächst als Öl, dann dimorph in Blättchen und Säulen krystallisierend aus und schmolz zwischen 155—160° zu einer klaren roten Flüssigkeit. Ausbeute 0,156 g aus 10 Liter Harn.

Kutscher und Lohmann betrachteten das Goldsalz als das des Novains, das Kutscher aus dem Fleischextrakt isoliert hatte. Die Base aus dem Harn zeigte die gleichen charakteristischen Giftwirkungen wie das Novain aus Fleischextrakt (Kutscher und Lohmann[2])).

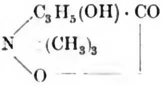
Da neuerdings Kutschers Mitarbeiter Engeland die von Krimberg schon angenommene Identität des Carnitins und Novains seinerseits bewiesen hat, und dem Carnitin die Formel $C_7H_{15}NO_3$ zukommt, so muss die Frage nach der Konstitution der Base aus dem Harn noch als unerledigt gelten. Trotz einiger Abweichungen im Verhalten liegt der Gedanke nahe, dass sie mit dem γ-Butyrobetain identisch ist, das Takeda[2]) aus dem Hundeharn nach Phosphorvergiftung isoliert hat.

Ähnliches gilt von der als Reduktonovain bezeichneten Base von Kutscher[3]), deren Goldsalz in einer Ausbeute von 2 g aus 100 Liter Frauenharn erhalten wurde. Die Base fiel zusammen mit dem Mingin (s. S. 717) als Goldsalz. Bei der Darstellung der Chloride aus dem Goldsalzgemenge blieb das Chlorhydrat der Base in der alkoholischen Lösung, wurde daraus mit alkoholischer Sublimatlösung gefällt und durch Überführung des Quecksilber-Doppelsalzes in das Chloraurat isoliert. Nach zweimaligem Umkrystallisieren aus stark salzsäurehaltigem Wasser wurde das Chloraurat rein erhalten. Es ist gegen Licht empfindlich, beginnt an der Luft schon bei 80° zu sintern und sich zu verfärben. Im Schmelzröhrchen sintert es erst bei 125°, schmilzt zwischen 155—160°, wird aber erst zwischen 175—180° ganz klar. Die

[1]) Kutscher und Lohmann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 48. 1. 1906. — R. Engeland, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussm. 16. 664. 1908.
[2]) Kutscher und Lohmann, Pflügers Arch. 114. 553. 1906. — R. Engeland, Berichte d. chem. Gesellsch. 42. 2457. 1909. — R. Krimberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. 55. 466. 1908. — K. Takeda, Pflügers Arch. 133. 365. 1910.
[3]) Kutscher, Zeitschr. f. physiol. Chem. 51. 458. 1907.

Digitized by Google

Analyse führt, vorausgesetzt dass das Salz ganz einheitlich war, zu der Formel $C_7H_{16}NOCl \cdot AuCl_3$. Die Base spaltet, mit Baryt destilliert, Trimethylamin ab, wodurch ihre Zugehörigkeit zur Gruppe der Choline bezw. Betaine erwiesen ist. Wie sie sich vom Carnitin bezw. Novain ableitet, das nunmehr sowohl von Krimberg wie von Engeland als ein γ-Trimethyl-oxybutyrobetain



angesehen wird, ist noch unentschieden.

Anhang.

Die Abspaltung von Trimethylamin aus Harn.

Dessaignes stellte bereits im Jahre 1856 fest, dass aus alkalisch gemachtem Harn Trimethylamin abdestilliert werden kann. De Filippi bestätigte die Erfahrung von Dessaignes, indem er mittels einer quantitativen Methode aus normalen Menschenurinen durch Destillation mit Kalilauge Trimethylaminmengen von etwa 2—5 cg pro Liter gewann. Er hielt das Trimethylamin für ein normales Stoffwechselprodukt, dessen Menge namentlich durch den Fleischgehalt der Nahrung vermehrt würde. Takeda aber zeigte neuerdings, dass man bei Anwendung einer dem Ammoniakbestimmungsverfahren von Krüger-Reich und Shaffer nachgebildeten Methode, die den Nachweis — wenn auch nicht die quantitative Bestimmung — von präformiertem Trimethylamin gestattet, aus frischem Menschen-, Hunde- und Pferdeharn kein Trimethylamin erhält. Wenn die Base sich aus Menschenharn gewinnen liess, so hatte der Harn schon mindestens 24 Stunden gestanden. Da aber bei der Fäulnis des Harns sich Trimethylamin bildet, wie ebenfalls Takeda nachwies, so ist bisher kein Beweis dafür erbracht, dass es im normalen Harn präformiert vorkommt. Erdmann sowohl wie Kinoshita[1]) konnten mit anderen Methoden im wesentlichen Takedas Resultate bestätigen.

Die Beobachtung de Filippis, dass Fleischnahrung die Menge des gewinnbaren Trimethylamins erhöht, spricht für die Auffassung von

[1]) Dessaignes, Liebigs Ann. d. Chem. **100**. 218. 1856 — De Filippi, Zeitschr. f. physiol. Chem. **49**. 433. 1906. — Takeda, Pflügers Arch. **129**. 82. 1909. — C. C. Erdmann, Journ. of biol. Chem. 8. 57. 1910. — T. Kinoshita, Zentralbl. f. Physiol. **24**. 776. 1910.

Digitized by Google

Kutscher, dass die von ihm aus dem Harn isolierten Basen, die wahrscheinlich mit dem Carnitin des Fleisches in Zusammenhang stehen, die Muttersubstanzen der flüchtigen Basen sind.

Ob im normalen Harn auch noch andere Trimethylamin abspaltende Körper vorkommen, ist nicht bekannt. Liebreich[1]) erwähnt gelegentlich ohne nähere Angaben, in dem Urin lasse sich in sehr kleinen Mengen eine Base nachweisen, die ein dem Neurin sehr ähnliches Verhalten zeige. Bezüglich des etwaigen Vorkommens von Cholin oder Neurin im Harn bei Morbus Addisonii s. S. 739.

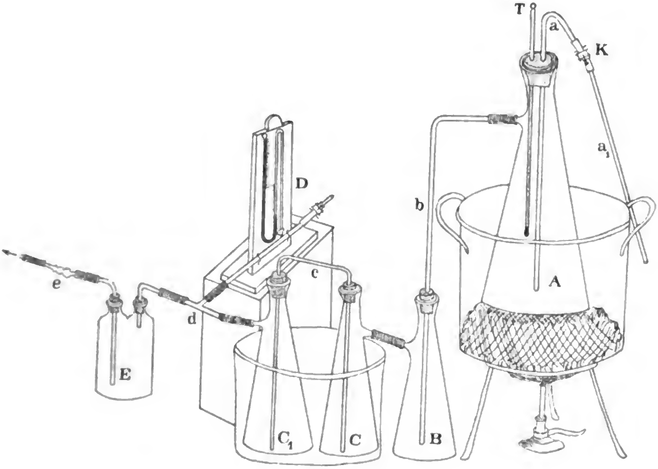


Fig. 39.

1. Nachweis von Trimethylamin nach Takeda:

Da es sich um den Nachweis geringer Mengen Trimethylamin handelt, muss die für die Ammoniakbestimmung nach Krüger-Reich (s. S. 532) gebrauchte Apparatur in der Weise abgeändert werden, wie es die Abbildung zeigt.

Das Gefäss A ist das Destillationsgefäss. Es besteht aus einer dickwandigen, 3 Liter fassenden Saugflasche, die in einem mit Wasser gefüllten Emailletopf auf einem Strohkranz steht. B ist eine kleine Saugflasche; dieselbe dient als Vorlage, um bei etwaigem Überschäumen des Harns die aus A übertretende Flüssigkeit aufzunehmen. B enthält so viel verdünnte Salzsäure, dass der Boden davon bedeckt ist. C und C_1 sind die eigentlichen Absorptionsgefässe. Sie sind zu $^1/_6$ mit verdünnter Salzsäure gefüllt, in die das U förmig gebogene, bis auf den Boden

[1]) O. Liebreich, Berichte d. chem. Gesellsch. 2. 12. 1868.

von C und C_1 reichende Verbindungsrohr c beiderseits eintaucht. C und C_1 stehen in einem mit Eiswasser gefüllten Topf. Durch ein T-Stück steht C_1 mit dem Manometer D, andererseits mit der Wulfschen Flasche E in Verbindung. Von E führt das Rohr e zur Wasserstrahlluftpumpe. Um in das Destillationsgefäss A Alkohol nachzufüllen, ist in den abschliessenden Stopfen ausser dem Thermometer T ein gebogenes Rohr a eingefügt, das durch einen Gummischlauch mit dem Glasrohr a_1 beweglich verbunden ist. Der Gummischlauch kann durch die Klemmschraube K geschlossen werden.

Beim Gebrauch wird A mit 1 Liter des zu untersuchenden Harns, 100 ccm Alkohol und 400 ccm Kalkmilch oder 8—10 g Magnesiumoxyd beschickt. Das Wasserbad, in dem A steht, wird auf 40° erwärmt, die Klemmschraube K geschlossen und der Druck im ganzen System mittelst der Pumpe auf 35 mm Hg gebracht. Bei Beginn der Destillation schäumt der Harn häufig stark. Um ein Übertreten des Schaumes in das Gefäss B zu verhindern, lockert man zuweilen die Klemmschraube K etwas, so dass ein wenig Luft nach A eintreten kann. Sehr bald aber siedet die Flüssigkeit in A ganz ruhig und ohne Schaumbildung. Man schliesst dann K fest und lässt die Flüssigkeit die gewünschte Zeit bei 30—40 mm Hg Druck kochen. Zum Schluss des Versuches saugt man durch a_1 noch 50 ccm Alkohol nach, welche den Kolbeninhalt wieder in lebhaftes Sieden bringen.

Nach Beendigung des Versuches wird das in den Vorlagen B, C und C_1 gesammelte Destillat sorgfältig in eine Schale gespült, darin zur Trockne verdunstet und der Rückstand mit Alkohol extrahiert. Das alkoholische Extrakt wird ebenfalls zur Trockne verdampft, wieder mit Alkohol aufgenommen. Der verbleibende Rückstand wird nochmals in Alkohol gelöst, aus der Lösung wird der Alkohol verjagt, der Rückstand in einem Tropfen verdünnter Salzsäure gelöst und mit 30 %iger wässeriger Goldchloridlösung gefällt. Ein auftretender Niederschlag zeigt Trimethylamin an.

Andere flüchtige Basen, die schwer lösliche Goldsalze bilden, treten nach Takedas Erfahrungen im normalen Harn nicht auf. Bei 20 Minuten langem Destillieren wurden von Trimethylamin, das einem von der Base freien Harn zugesetzt war, ungefähr 1/3, bei 40 Minuten langem Kochen ungefähr die Hälfte der Base als Goldsalz wiedergefunden. Die vorgenommenen Goldbestimmungen stimmten auf Trimethylaminchloraurat.

2. Bestimmung des mit Alkalien aus dem Harn abspaltbaren Trimethylamins nach de Filippi.

A. Prinzip. Das Gemisch der Basen, welche bei Destillation des Harns aus alkalischer Lösung übergehen, wird in Salzsäure aufgefangen, die zur Trockne gedampften Chlorhydrate durch Alkoholextraktion vom Chlorammonium getrennt und in wässeriger Lösung mit Natriumhypobromitlösung zersetzt. Dabei werden die primären und sekundären Amine unter Stickstoffentwickelung zersetzt, während das Trimethylamin unzersetzt bleibt, wenn man den Überschuss von Hypobromit sofort durch Ansäuern unschädlich macht, nachdem die Stickstoffentwickelung aufgehört hat. Damit bei der Einwirkung der alkalischen Hypobromitlösung auf das salzsaure Trimethylamin nicht ein Teil der Base entweicht, muss dieser Teil der Operation in dem durch eine Salzsäurevorlage abgeschlossenen Destillationsapparate, an dem mit Rücksicht auf das freiwerdende Brom Kork und Gummistopfen vermieden sind,

Digitized by Google

ausgeführt werden. Das während der Zersetzung mit Bromlauge in die Vorlage übergegangene, in Salzsäure aufgefangene Trimethylamin wird zur Trockne verdampft, das im Destillationskolben zurückgebliebene mit Alkali destilliert, ebenfalls in Salzsäure aufgefangen, die so gewonnene Hauptmenge des Chlorhydrats mit der ersten Portion vereinigt und auf wenige ccm eingedampft. Diese Lösung des gesamten Trimethylaminsalzes wird alkalisch gemacht und destilliert. Das Destillat wird in titrierter Säure aufgefangen und durch Zurücktitrieren mit Lauge die Menge der übergegangenen Base bestimmt.

B. Ausführung: Die Tagesmenge Harn wird in einen 3 Liter-Kolben gebracht, der 10—15 g Kalilauge (10 g KOH pro Liter Harn) und einige Paraffinstückchen zum Verhindern des Schäumens enthält, und im Wasserdampfstrom destilliert. Als Vorlage dient ein mit einem Péligotschen Rohr abgeschlossener Erlenmeyerkolben mit doppelt durchbohrtem Stopfen. Durch die eine Bohrung ragt das Ende des senkrecht absteigenden Kühlers, der oben eine Sicherheitskugel wie bei der Destillation der Kjeldahlbestimmungen trägt, in den Kolbenhals, in der anderen befindet sich die Glasröhre, die zum Péligotschen Rohr führt. Dieses enthält Glasperlen, die mit verdünnter Salzsäure eben bedeckt sind. Im Sammelkolben befinden sich 100 bis 150 ccm auf $^1/_3$ verdünnter Salzsäure von 1,19 D. Man erwärmt zunächst langsam; nach Beginn der Destillation lässt man kräftig sieden und reguliert den Dampfstrom so, dass das Flüssigkeitsvolum im Destillationskolben annähernd konstant bleibt. In $1^1/_2$ Stunden soll man etwa 1 Liter Destillat erhalten. Bei dieser Geschwindigkeit der Destillation ist alles Trimethylamin aus normalem Harn übergegangen, wenn das Volum des Destillats $^2/_3$ des angewandten Harnvolums ausmacht.

Nachdem man sich vergewissert hat, dass der Inhalt des Sammelkolbens sauer reagiert, führt man das Destillat und die durch Auswaschen der Glasperlen erhaltene Flüssigkeit quantitativ in eine grosse Schale über, dampft über freier Flamme, ohne zum Sieden kommen zu lassen, auf 200—300 ccm, dann auf dem Wasserbade zur Trockne ein, zum Schluss unter Zusatz von etwas Alkohol.

Der Rückstand in der Schale wird mit einem Stössel pulverisiert und wiederholt mit kleinen Mengen absoluten Alkohols extrahiert. Die alkoholische Lösung wird in einer Porzellanschale, die gross genug ist, dass die Flüssigkeit nicht über den Rand steigt, auf dem Wasserbad verdunstet, ohne dass der Alkohol ins Sieden kommt. Die Extraktion mit absolutem Alkohol wird noch zweimal mit kleineren Mengen wiederholt.

Der Rückstand der alkoholischen Lösung wird in wenigen ccm Wasser aufgenommen und die gelbliche Lösung in einen Jenenser Kolben von 300 ccm Inhalt gebracht, der mit dem oben beschriebenen Kühler durch einen eingeschliffenen Glasstöpsel verbunden ist. Im Glasstöpsel ist ausser der Verbindung mit dem Kühler noch der Stiel eines Hahntrichters von 50—60 ccm Inhalt eingeschmolzen. Auch die Verbindung des Kühlers mit dem 500—600 ccm fassenden Sammelkolben (Erlenmeyer), der wiederum durch ein Péligotsches Rohr abgeschlossen ist, und die des Destillationsaufsatzes mit dem Kühler sind durch eingeschliffene Glasstopfen hergestellt. Das Péligotsche Rohr und der Sammelkolben enthalten 15—20 ccm verdünnte Salzsäure. Aus dem Hahntrichter lässt man 25 ccm Hypobromitlösung (25 ccm Brom in 500 ccm einer 20 %igen Kalilauge) in den Destillationskolben tropfen und schüttelt vorsichtig das Gemisch von Hypobromit und Chloriden; falls nach dem schwachen Aufschäumen die Flüssigkeit nicht ausgesprochen zitronengelbe Farbe annimmt, ist noch neue Hypobromitlösung zuzufügen.

Um den Überschuss von Hypobromit zu beseitigen, giesst man durch den Trichter in den Kolben ebenso viele ccm auf $^1/_3$ verdünnte Salzsäure (D = 1,19), als Hypobromitlösung verwendet wurde. Wegen der kleinen Mengen Trimethyl-

amin, die aus dem Urin zu erhalten sind, bildet sich nicht der orangerote Niederschlag, den grössere Mengen geben; doch zeigt sich zuweilen eine leichte, vorübergehende Trübung. Durch das freigewordene Brom nimmt die Flüssigkeit eine kirschrote Färbung an.

Das Brom wird abdestilliert und geht schnell mit dem Wasserdampf in den Sammelkolben über. Man unterbricht die Destillation, wenn der Inhalt des Destillationskolbens seine ursprüngliche gelbliche Färbung wieder angenommen und das Volum sich etwa auf die Hälfte oder weniger reduziert hat. Man ersetzt den Sammelkolben durch einen anderen ebenfalls 10—15 ccm verdünnte Salzsäure enthaltenden; die im Kühlerrohr noch vorhandenen Bromdämpfe werden ausser acht gelassen. Der Inhalt des ersten Sammelkolbens, der das Brom enthält, wird sofort zum Eindampfen auf das Wasserbad gebracht.

Um die Hauptmenge des Trimethylamins abzudestillieren, macht man den Inhalt des Destillationskolbens alkalisch, mit einem Volum einer 30 %igen Kalilauge, das dem Volum der vorher verwandten Salzsäure entspricht; hierbei entfärbt sich die bis jetzt gelbliche Flüssigkeit. Die Destillation geht ruhig vor sich, wenn man in den Kolben einige am einen Ende geschlossene Kapillaren gebracht hat. Durch Zutropfenlassen von Wasser aus dem Hahntrichter hält man das Flüssigkeitsniveau im Kolben während der Destillation annähernd konstant. Wenn kein alkalisch reagierendes Destillat mehr übergeht (Prüfung mit Lakmuspapier), unterbricht man die Destillation, führt das Destillat und den Inhalt des Péligotschen Rohres quantitativ in die Schale über, die das erste Destillat enthielt, aus dem inzwischen das Brom vertrieben wurde, und dampft den Schaleninhalt auf wenige ccm ein.

Während des Eindampfens füllt man in das Péligotsche Rohr und den Sammelkolben zusammen 25 ccm $n/_{10}$ Salzsäure und schliesst beide wieder an den Apparat an. Der Rückstand des eingedampften Destillats wird wieder in den Destillationskolben gebracht, durch 50 ccm 10 %ige Kalilauge, die durch den Trichter eingeführt werden, alkalisch gemacht und das Trimethylamin in die titrierte Salzsäure überdestilliert. Zum Schluss wird der Inhalt des Sammelkolbens und des Péligotschen Rohres durch $n/_{10}$-Kalilauge titriert.

Der ganze Prozess nimmt $2\frac{1}{2}$ Tage in Anspruch. Der Verlust an zugesetztem Trimethylamin in Kontrollversuchen betrug 1,3 %.

V. Gynesin.

$C_{19}H_{23}N_3O_3$.

Kutscher und Lohmann[1]) erhielten aus der Mutterlauge des Goldsalzes vom Pyridinmethylchlorid (s. S. 705) beim langsamen Eindunsten ein in kräftigen, vierseitigen, rotgelben Säulen krystallisierendes Goldsalz, das dreimal aus heissem Wasser umkrystallisiert wurde. Bei schnellem Abkühlen fiel es sofort in dünnen, hellgelben Nädelchen aus, die bei 180° zu einer trüben Masse, zwischen 205—210° zu einer klaren, dunkelroten Flüssigkeit zusammenschmolzen. Die Ausbeute an Goldsalz betrug 1,5 g aus 100 Liter Harn. Aus der Analyse wurde die Formel $C_{19}H_{23}N_3O_3 . 2\,HCl . 2\,AuCl_3$ berechnet. Die zweisäurige, aus Frauenharn erhaltene Base wurde Gynesin genannt.

[1]) Kutscher und Lohmann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **49**. 85. 1906.

Digitized by Google

VI. Mingin.

$C_{13}H_{18}N_2O_2$.

Das Goldsalz des zweisäurigen Mingins wurde von Kutscher[1]) bei der Verarbeitung der 100 Liter Frauenharn wie folgt erhalten.

Das Filtrat der zweiten Platinfällung (s. Darstellung des Pyridinmethylchlorids) wurde eingeengt, wobei sich noch ein kleiner Anteil Platinsalz krystallinisch abschied; die Mutterlauge dieser Krystalle wurde zur Trockne verdampft, in Wasser aufgenommen und in der mehrfach beschriebenen Weise in die Chlorhydrate verwandelt, diese mit absolutem Alkohol aufgenommen und wieder mit 20 %iger Platinchloridlösung gefällt. Der Niederschlag wurde abgesaugt, mit den vorher ausgeschiedenen Platinsalzen vereinigt, und diese vereinigten Platinate in der beschriebenen Weise erst in die Chlorhydrate, dann in die Goldsalze übergeführt. Die ölig abgeschiedenen Goldsalze wurden mit den ebenfalls öligen Goldsalzen, die sich aus den Mutterlaugen des Methylpyridinium- und des Gynesin-Chloraurats abgeschieden hatten, vereinigt, in heissem Wasser unter Zusatz einiger Tropfen starker Salzsäure gelöst, in die Chlorhydrate übergeführt und zum dünnen Sirup eingeengt. Nach mehrtägigem Stehen im Exsiccator erstarrten sie zu einem Krystallbrei, der mit kaltem absoluten Alkohol verrieben wurde. Dabei blieb der kleinere Teil ungelöst als lange, weisse Nadeln zurück. Diese wurden abgesaugt, mit Alkohol gewaschen, in wenig Wasser gelöst und mit 30 %iger Goldchloridlösung gefällt. Das Goldsalz, aus wenig heissem, salzsäurehaltigem Wasser umkrystallisiert, schied sich beim Erkalten sofort in kleinen, durchsichtigen, gelbroten, vierseitigen Säulen ab, die bei 194° scharf schmolzen. Ausbeute: 0,45 g. Aus der Analyse wurde die Formel $C_{13}H_{18}N_2O_2 . 2\,HCl . 2\,AuCl_3$ berechnet.

VII. Kynosin.

$C_{13}H_{26}N_4O_4$.

Aus 17 Liter normalem Hundeharn gewannen Kutscher und Lohmann[2]) das Goldsalz einer giftigen Base, für das sie unter der Annahme, dass es eine einheitliche Verbindung sei, die Formel $C_{13}H_{26}N_4O_4 . 2\,HCl . 2\,AuCl_3$ berechneten.

Die Isolierungsmethode war folgende:

Der mit Salzsäure angesäuerte Harn wurde nach Entfernung der auskrystallisierten Kynurensäure mit Phosphorwolframsäure gefällt. Die aus der Fällung gewonnenen Basen wurden in die Chlorhydrate übergeführt, diese mit Alkohol aufgenommen und mit 20 %iger alkoholischer Platinchloridlösung gefällt. Die Platinsalze wurden zersetzt und in die Goldsalze übergeführt. Das erhaltene Öl wurde wieder mit Schwefelwasserstoff zersetzt und die Überführung in die Platin- und dann in die Goldsalze nochmals wiederholt. Die beim zweiten Male erhaltene Goldfällung krystallisierte bald. Die Krystalle veränderten beim Umkrystallisieren ihren (nicht angegebenen) Schmelzpunkt nicht. Ausbeute: 0,65 g Goldsalz. Aus der Analyse berechnet Kutscher die Formel: $C_{13}H_{26}N_4O_4 . 2\,HCl . 2\,AuCl_3$.

Das aus 95 mg der Goldverbindung dargestellte, in feinen Nadeln krystallisierende Chlorhydrat tötete eine Maus in einer Stunde.

[1]) Kutscher, Zeitschr. f. physiol. Chem. 51. 458. 1907.
[2]) Kutscher und Lohmann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 48. 3 und 49. 88. 1906.

Digitized by Google

VIII. Protaminähnliche Verbindung von Engeland.

$C_{15}H_{36}N_8O_{13}$ oder $C_{30}H_{72}N_{16}O_{26}$.

Engeland[1]) stellte aus normalem Menschenharn das Goldsalz einer protaminähnlichen, aber wesentlich sauerstoffreicheren Verbindung (für Scombrin ist die Formel $C_{30}H_{70}N_{16}O_6$ berechnet) auf folgendem Wege dar:

Der Harn (40 Liter) wurde vorbehandelt, wie es auf S. 632, Absatz 1 bei der Isolierung des Histidins beschrieben ist. Die schmierig sich abscheidende Platinfällung wurde mit absolutem Alkohol gewaschen und in heissem Wasser gelöst, vom schwer löslichen Platinsalmiak wurde abfiltriert und das die löslichen Platinsalze enthaltende Filtrat in der üblichen Weise in die Chlorhydrate, dann in die Goldsalze übergeführt. Nach mehrtägigem Stehen unter dem Exsiccator krystallisierte ein Goldsalz aus, das abgesaugt und aus heisser verdünnter Salzsäure umkrystallisiert wurde. Beim Umkrystallisieren trat jedesmal starke Reduktion auf. Deshalb wurde das Goldsalz in wenig konzentrierter, heisser Salzsäure gelöst und in eine mit Eis gekühlte Saugflasche filtriert, aus der es ohne Reduktion auskrystallisierte. Engeland spricht es als Goldsalz des Vitiatins (s. o. S. 702) an.

Aus der Mutterlauge dieses Goldsalzes krystallisierte nach wochenlangem Stehen unter dem Exsiccator eine Goldverbindung in rotgelben Oktaedern aus, die aus verdünnter Salzsäure, worin sie ebenso wie in Wasser sehr leicht löslich ist, umkrystallisiert wurde. Bei langsamer Ausscheidung aus heisser konzentrierter Salzsäure bildet sie Krystallwarzen, die sehr hygroskopisch sind, sich bei 100° schwärzen und sich bei stärkerem Erhitzen langsam unter starkem Aufblähen zersetzen. Die Ausbeute betrug 0,5 g Goldsalz, doch blieb viel zurück.

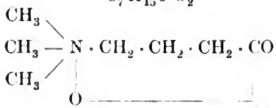
Die Analyse führte zu der Formel $C_{15}H_{36}N_8O_{13} \cdot HCl \cdot AuCl_3$ bezw. einem Multiplum derselben.

Das (nicht analysierte) Platinsalz ist leicht löslich, schwer nur in absolutem Alkohol. Das aus dem Goldsalz regenerierte Chlorhydrat gibt Biuretreaktion und die Farbenreaktionen des Histidins mit Diazobenzolsulfosäure und mit Bromwasser (s. S. 633, Nr. 11, 12), während die Millonsche Probe negativ ausfällt.

Basen aus dem Harn mit Phosphor vergifteter Hunde.

I. γ-n-Butyrobetain.

$C_7H_{15}NO_2$



Syn. γ-Trimethyl-n-butyrobetain.

Die Verbindung wurde synthetisch von Willstätter[2]) durch erschöpfende Methylierung der γ-Aminobuttersäure, die durch Verseifung von Pyrrolidon gewonnen war, mit Jodmethyl in alkalisch-methylalkoholischer Flüssigkeit erhalten. Durch

[1]) R. Engeland, Zeitschr. f. physiol. Chem. 57. 57. 1908.
[2]) R. Willstätter, Berichte d. chem. Gesellsch. 35. 617. 1902.

Digitized by Google

Neutralisieren mit Jodwasserstoffsäure und Zufügen der erforderlichen Menge Jod, in Jodwasserstoffsäure gelöst, wird das Produkt in Form eines dunkelbraunen krystallinischen Perjodids gefällt. Das abgesaugte, gewaschene Perjodid verliert bei der Destillation mit Wasserdampf das addierte Jod quantitativ und liefert eine fast farblose Lösung des Jodhydrats; die mit Silberoxyd in das Betain übergeführt wird. Von etwas beigemengtem Kaliumcarbonat kann es durch Behandlung mit absolutem Alkohol leicht gereinigt werden.

A. Vorkommen. Takeda[1]) isolierte die Base aus dem Harn mit Phosphor vergifteter Hunde als Goldsalz und identifizierte das Platinsalz durch Vergleich mit dem von Willstätter gewonnenen Salz des synthetischen Betains, nachdem er die Betainnatur der analysierten Verbindung durch Veresterung und Abspaltung von Trimethylamin festgestellt hatte.

Die Substanz steht als Reduktionsprodukt des Carnitins (Krimberg, Engeland) sicher in naher Beziehung mit den von Kutscher und Lohmann gefundenen und als Novain bezw. Reduktonovain bezeichneten Basen (s. S. 711), doch lassen die bisherigen Angaben über diese an der Identität zweifeln. Dagegen scheint nach Takedas Feststellungen die Base identisch zu sein mit der von Brieger[2]) aus faulem Fleisch isolierten.

B. Eigenschaften. 1. Das γ-n-Butyrobetain ist in absolutem Alkohol sehr leicht löslich; auf Zusatz von Äther zur Lösung in wasserhaltigem Alkohol krystallisiert es in der Kälte in schneeweissen Krystallblättchen aus, wenn man eine zu rasche Ausfällung vermeidet. Dieselben verwittern an der Luft und ziehen wieder Feuchtigkeit an, sie enthalten wahrscheinlich 3 Mol. Krystallwasser. Die wasserfreie Substanz erweicht im Kapillarrohr bei 130°, schrumpft dann allmählich zusammen und schäumt bei ca. 222° auf, ohne zu schmelzen (Willstätter).

2. Das Chlorhydrat $C_7H_{15}NO_2 . HCl$ krystallisiert in Nadeln, die in absolutem Alkohol schwer löslich sind, und schmilzt bei 200°, bei 195° fängt es an zu sintern, es schmeckt süsssauer (Takeda). Mit Kaliumquecksilberjodid entsteht eine ölige Fällung, die im Überschuss des Reagens löslich ist; sie wird nach einiger Zeit krystallinisch. Ebenso verhält es sich gegen Kaliumcadmiumjodid und Jodjodkalium. Dragendorffs Reagens (Jodwismut-Jodkalium) gibt rotbraune, amorphe Fällung, die sich nach einiger Zeit in vierseitige, rhombische Plättchen umwandelt; sie ähneln den Krystallen des salpetersauren Harnstoffs (Takeda). Mit Phosphormolybdänsäure entsteht eine gelbe, mit Phosphorwolframsäure eine weisse Fällung, mit alkoholischer Sublimatlösung ein in Wasser leicht lösliches Quecksilber-Doppelsalz (Brieger).

[1]) K. Takeda, Pflügers Arch. 133. 365. 1910.
[2]) L. Brieger, Über Ptomaine III. 27. Berlin 1886.

Digitized by Google

— Das Chloraurat $C_7H_{16}NO_2 . Cl . AuCl_3$ krystallisiert dimorph in hellgelben Nadeln und Plättchen vom Schmelzpunkt 176° (Brieger, Takeda). — Das Chloroplatinat $C_{14}H_{32}N_2O_4Cl_6Pt$ ist in kaltem Wasser ziemlich leicht, in warmem sehr leicht, in Alkohol auch in der Hitze fast gar nicht löslich. Aus konzentrierter Lösung krystallisiert es wasserfrei in hellroten, vier- und sechseckig begrenzten, länglichen Täfelchen und in flächenreichen Prismen, die bei 224—225° (Willstätter) bezw. 225—228° (Takeda) unter Zersetzung schmelzen.

3. Mit Baryt erhitzt spaltet das Chlorhydrat Trimethylamin ab (Takeda). Das trockne Betain zersetzt sich beim Destillieren in Trimethylamin und Butyrolacton.

$$(CH_3)_3N \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CO \cdot O = (CH_3)_3N + CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CO \cdot O.$$

4. Physiologische Wirkung. Das Chlorhydrat bewirkt, subkutan injiziert, schon in Dosen von 5 mg bei Mäusen Diarrhöe, Dyspnoe und reichliche Salivation. 15 mg töten eine Maus in 5 Minuten. Bei Fröschen tritt eine curareartige Wirkung und Herzstillstand in Diastole ein (Takeda, Brieger). Genauere Beschreibung des Vergiftungsbildes namentlich von Meerschweinchen siehe bei Brieger.

C. Darstellung. 65 Liter Harn von Hunden, die mit Phosphor vergiftet waren, wurden bis zur zweiten Silberfällung so behandelt, wie zur Isolierung des Methylguanidins nach Achelis (s. S. 698). Das Filtrat vom Silberniederschlag II wurde durch Salzsäure vom Silber, durch Schwefelsäure vom Baryt befreit, und nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure mit Phosphorwolframsäure aufs neue gefällt.

Aus dieser zweiten Phosphorwolframsäure-Fällung wurde wie üblich die Lösung der kohlensauren Basen gewonnen und diese zum Sirup eingeengt. Der Sirup wurde mit Salzsäure angesäuert und bis zur beginnenden Krystallisation eingedampft. Der Schaleninhalt wurde mit Methylalkohol aufgenommen, von anorganischen Salzen wurde abfiltriert, das methylalkoholische Filtrat eingedampft und mit Äthylalkohol aufgenommen. Die Extraktion mit Äthylalkohol wurde dreimal wiederholt, wobei jedesmal vom unlöslichen Rückstand abfiltriert wurde, schliesslich wurde die alkoholische Lösung mit Quecksilberchlorid in der Hitze gesättigt. Der Niederschlag der schwerlöslichen Quecksilberverbindungen wurde nach 24 stündigem Stehen abgesaugt und mit gesättigter alkoholischer Sublimatlösung gewaschen.

Die Sublimatfällung wurde in der üblichen Weise in die Chlorhydrate übergeführt, diese mit Alkohol aufgenommen, wobei ein krystallinisches Chlorhydrat zurückblieb, das in Wasser gelöst und als Goldsalz gefällt wurde (Verbindung $C_{13}H_{26}N_2O_3$ siehe folgender Abschnitt).

Digitized by Google

Das alkoholische Filtrat von dem krystallinischen Chlorhydrat $C_{13}H_{26}N_2O_3 . 2\,HCl$ wurde zum dünnen Sirup eingedampft und mit alkoholischem 20 %igem Platinchlorid gefällt. Die Platinfällung wurde in heissem Wasser gelöst, von etwas Platinsalmiak abfiltriert, das Filtrat in die Goldsalze übergeführt. Diese scheiden sich zunächst teils ölig, teils krystallinisch ab. Der in Wasser schwerer lösliche Teil bestand aus dem Chloraurat des Butyrobetains, das nach dreimaligem Umkrystallisieren rein war.

II. Die Base $C_{13}H_{26}N_2O_3$. (Takeda)

Die Gewinnung der Base als Goldsalz wurde im vorigen Abschnitt beschrieben. Ihr Chlorhydrat ist wenig hygroskopisch, in Wasser leicht, in Alkohol schwer löslich und schmilzt bei 214—216°. Bei trockner Destillation treten nach Trimethylamin riechende Dämpfe auf. Es schmeckt süsssauer. Jodjodkalium und Kaliumcadmiumjodid liefern keine, Kaliumquecksilberjodid eine ölige Fällung, die sich im Überschuss des Fällungsmittels löst, Dragendorffs Reagens einen starken Niederschlag von roten Nadeln.

Das Goldsalz $C_{13}H_{28}N_2O_3 . 2\,AuCl_4$ bildet derbe, hellgelbe Nadeln und schmilzt bei 165°, es ist in Wasser ziemlich schwer löslich.

Das Chlorhydrat liefert, mit salzsäurehaltigem. absolutem Alkohol auf dem Wasserbad erwärmt, einen Ester, der mit alkoholischer Platinchloridlösung sich als in Wasser schwer lösliches Platinsalz abscheidet: $C_{12}H_{27}N_2O.CO_2.C_2H_5.PtCl_6$. Es schmilzt bei 156—157°, zersetzt sich bei 165—170°.

Die Substanz enthält also eine Carboxylgruppe. Sie ist isomer mit dem von Ackermann und Kutscher[1]) aus Krabbenextrakt gewonnenen „Crangonin", unterscheidet sich aber von diesem durch die Schwerlöslichkeit des Chlorhydrats in Alkohol und den Schmelzpunkt des Goldsalzes.

III. Die Base $C_{13}H_{26}N_2O_5$. (Takeda)

In der Mutterlauge des Chloraurates vom Butyrobetain fand Takeda die leichter lösliche Goldverbindung einer zweisäurigen Base $C_{13}H_{26}N_2O_5$. Das Goldsalz scheidet sich immer erst als Öl aus, krystallisiert nach einiger Zeit und schmilzt bei 110°. — Das Chlorhydrat bildet einen hygroskopischen Sirup, der über Schwefelsäure allmählich in Nadeln krystallisiert und süsssauer schmeckt. Die Lösung dreht den polarisierten Lichtstrahl nach links. Mit Kaliumwismutjodid

[1]) D. Ackermann und F. Kutscher, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genussm. 14. 687. 1906.

Digitized by Google

entsteht körnige, rotbraune Fällung, mit Kaliumquecksilberjodid weisser, im Überschuss des Fällungsmittels löslicher Niederschlag, mit Pikrinsäure und mit Pikrolonsäure keine Fällung.

Die Verbindung lässt sich wie die vorige verestern, wobei zwei Carboxylgruppen Äthyl aufnehmen. Das Platinsalz des Esters $C_{11}H_{26}N_2O(CO_2.C_2H_5)_2PtCl_6$ krystallisiert in Blättchen, die bei 220° schmelzen; in Wasser ist es nicht sehr schwer löslich.

Bei der Destillation mit Baryt liefert die Base so viel Trimethylamin, dass beide Stickstoffatome als Trimethylaminkerne darin enthalten sein müssen.

Das Chlorhydrat bewirkt in einer Dosis von 0,04 g bei intravenöser Injektion an Kaninchen eine geringe Blutdrucksenkung.

Weiterhin isolierte Takeda aus dem Harn der mit Phosphor vergifteten Hunde noch Methylguanidin, und aus der Silberfällung I (Histidinfraktion) in geringen Mengen das Chlorhydrat einer Base, die Ähnlichkeit mit den Pyrimidinbasen zeigt, aber mit keiner bekannten Pyrimidinbase identisch ist. Sie gibt die Paulysche Histidinreaktion: Rotfärbung mit Diazobenzolsulfosäure in sodaalkalischer Lösung, aber sonst keine Reaktion des Histidins.

In dem Silberniederschlag II, der das Methylguanidin enthielt, wurde vergeblich auf Arginin gefahndet. Takeda vermutet deshalb, dass das Pikrolonat, das Wohlgemuth aus dem Menschenharn nach Phosphorvergiftung erhalten und als Argininsalz angesprochen hat, das sich aber vom sonst beschriebenen Arginin-Pikrolonat unterscheidet (siehe S. 636), vielleicht das Pikrolonat einer Harnbase gewesen sei.

Über die physiologische Wirkung der einzelnen Harnfraktionen, die chemisch nicht identifiziert wurden, hat Takeda Untersuchungen an Kaninchen angestellt, die im Orginal einzusehen sind.

Sonstige Versuche zum Nachweis und zur Isolierung giftiger Bestandteile aus normalen und pathologischen Harnen (Ptomaine).

Ptomaine (πτῶμα, Leichnam) nannte Selmi die bei der Fäulnis tierischer Substanz entstehenden alkaloidartigen Verbindungen (Leichenalkaloide); die giftigen derselben bezeichnet Brieger als Toxine. Für die im pathologischen Harn auftretenden Ptomaine schlug Selmi den Namen Pathoamine vor, andere brauchen dafür den Ausdruck Urotoxine. Unter Leukomainen (λεύκωμα, Eiereiweiss) versteht A. Gautier die im gesunden Organismus vorkommenden Basen (Kreatinin, Xanthin etc.).

A. Vorkommen[1]). Ältere und neuere physiologische Versuche haben ergeben, dass der Harn von der Blutbahn aus giftig wirkt.

[1]) Zusammenstellung der Literatur bis 1901 s. bei H. Singer, Arch. internat. d. pharmacodyn. S. 207. 1901.

Digitized by Google

Das charakteristische Symptomenbild bei der intravenösen Injektion des unveränderten (nur mit Natriumbicarbonat neutralisierten) Harns besteht in starker Myosis, Verlangsamung der Respiration nach vorhergegangener Beschleunigung, Polyurie, oft zugleich Diarrhöe, zunehmender Lähmung des motorischen Gebiets, Herabsetzung der Körpertemperatur, Somnolenz, Erlöschen der Reflexerregbarkeit, Atemstillstand, schliesslich Herzstillstand ohne Konvulsionen.

Der alkohollösliche Teil des Urins veranlasst besonders Narkose, Koma, Diurese, Blutdrucksteigerung und oft eine erhebliche Salivation, nicht aber Myosis und Temperaturerniedrigung. Der alkoholunlösliche Teil bewirkt Myosis, Konvulsionen und Temperaturabnahme, sowie Blutdrucksenkung.

Bei subkutaner Injektion an Mäuse verursacht das alkoholische Extrakt des im Vacuum bei 40° eingeengten Urins normaler Kaninchen und Pferde nach H. Pfeiffer[1]) folgende Symptome: Zunächst Depression, Mattigkeit, Polyurie, dann Unruhe, tonisch-klonische Krämpfe, die mit tonischer Starre abwechseln, später einen rauschartigen Zustand, schliesslich nach lange hingezogener Agone Tod durch Respirationsstillstand. Bei Meerschweinchen wirken die Extrakte auch nekrotisierend an der Injektionsstelle. Ferner enthalten sie eine Blutkörperchen agglutinierende Substanz.

Die Giftigkeit des menschlichen Harns ist sehr verschieden, und verschiedene Tierarten setzen der Giftwirkung des Harns einen ungleich grossen Widerstand entgegen. Nach Bouchard kann man ein Kaninchen töten, wenn man ihm pro Kilo Körpergewicht im Mittel 45 ccm normalen menschlichen Harn auf einmal mit einer Geschwindigkeit von 15—20 ccm pro Minute injiziert; für Hunde sind dazu nach Lépine und Aubert 60 ccm Harn auf das Kilo Körpergewicht, nach Feltz und Ritter ungefähr $^1/_{15}$ vom Gewicht des Hundes erforderlich, mit wesentlichen, von der Race abhängigen Schwankungen. Den Grad der Giftigkeit des menschlichen Harns bestimmt Bouchard nach dem Gewicht Kaninchen in Kilo, welche durch die vom Kilo Körpergewicht des Versuchsindividuums in 24 Stunden entleerte Harnmenge getötet wird; diese Grösse nennt er den toxischen Coefficienten des Harns (urotox. Coeff.). Beim gesunden Erwachsenen beträgt er 0,465, in Krankheiten schwankt er zwischen 2 und 0,1. Stefani[2]) findet bei langsamerer Injektion Werte zwischen 0,162 und 0,069 bei Gesunden.

Ein gesunder Erwachsener scheidet also — bei Zugrundelegung des Koëffizienten 0,465 — auf das Kilo seines Gewichts in 24 Stunden so viel Gift aus, dass 465 g Kaninchen getötet werden; oder, um ein Kaninchen von 1,860 kg zu

[1]) H. Pfeiffer, Ztschr. f. Hygiene u. Infektionskr. **54**. 482. 1908.
[2]) Ch. Bouchard, Comptes rendus **102**. 669. 1886. — R. Lépine und P. Aubert, Comptes rendus **101**. 90. 1885. — Feltz und Ritter, Comptes rendus **102**. 880. — N. Stefani, Arch. ital. d. biolog. **35**. 289. 1900.

Digitized by Google

töten, ist die vierfache Menge Gift nötig, welche ein Erwachsener in 24 Stunden pro Kilo seines Gewichts ausscheidet.

Als Urotoxie bezeichnet Bouchard die Menge Urin, die bei intravenöser Injektion 1 kg Kaninchen tötet. Im Mittel ist, wie angeführt, 1 Urotoxie = 45 ccm Menschenurin. Die Tagesmenge Menschenharn würde also, zu 1500 ccm angenommen, ca. 33 Urotoxien enthalten.

Nach Bouchard ist die Giftigkeit des normalen Harns unabhängig von seiner Konzentration. Trotz seiner grösseren Dichte ist der Nachtharn nicht so giftig als der Tagharn. Das gleiche gilt auch von dem während des Winterschlafs entleerten Harn (Noé) der Igel. Teilt man den Tag in drei achtstündige Perioden, so verhält sich die Giftigkeit des in der Nacht sezernierten zum Vormittag- und Nachmittagharn wie 3 : 7 : 5 Dieses Verhältnis bleibt auch bestehen, wenn zum Beginn jeder Periode dieselbe Nahrung in gleicher Menge genommen wird (3: 7,5: 4,5) In beiden Fällen ist der Harn zu Beginn des Schlafes am wenigsten giftig, von da an nimmt seine Giftigkeit zu bis zu Ende der zweiten Periode. Lebhafte Muskeltätigkeit in freier Luft, sowie das Atmen von komprimierter Luft setzt die Giftigkeit des Harns herab. Den Harn körperlich ermüdeter Menschen fanden Astolfoni und Soprana giftiger als den normalen. Die Harne der verschiedenen Tageszeiten unterscheiden sich auch in der Art der Giftwirkung; der Nachtharn verursacht Konvulsionen, der Tagharn wirkt narkotisch. Beide Gifte sind Antagonisten; ein Gemisch von Tag- und Nachtharn kann (um 1/3) weniger giftig sein, als sich nach der Wirkung eines jeden berechnet. Beck[1]) konnte das verschiedene Verhalten von Tag- und Nachtharn nicht bestätigen.

Über den Einfluss der Art der Nahrung auf die Giftigkeit des Harns haben Charrin und Roger ermittelt, dass Milchdiät und Hunger die Giftigkeit des Harns herabsetzen. Cassata[2]) fand nach Fleischnahrung den Harn am giftigsten.

Der Harn Neugeborener soll nach Hein giftiger, der von Kindern von 1—15 Jahren nach Lannelongue und Gaillard und nach Charrin[3]) weniger giftig als der Erwachsener sein.

Der Harn verschiedener Tiere besitzt einen sehr verschiedenen Grad der Giftigkeit. Nach Guinard wird bei intravenöser Injektion 1 kg Kaninchen getötet durch 193 ccm Harn vom Hunde, 132,7 ccm vom Menschen, 53 vom Schwein, 38,5 vom Rind, 35 vom Meerschweinchen, 33,8 vom Hammel, 32 von der Ziege, 29,4 vom Esel, 29,2 vom Pferd, 15 vom Kaninchen, 13 von der Katze. Die Giftigkeit des Igelharns ist etwa so gross wie die des Harns vom Meerschweinchen (Noé[4])).

Wie bereits bemerkt, ist im allgemeinen der Harn von Kranken giftiger als der von Gesunden. Nach Feltz und Ehrmann ist der Harn Fieberkranker (Typhus, Scharlach, akute Tuberkulose, Pneumonie, akuter Gelenkrheumatismus) 1½—2 mal so giftig wie der Gesunder. Die Giftigkeit ist auch hier nicht proportional der Dichte; Harn von 1,007 Dichte kann ebenso giftig sein wie solcher von 1,024. Gesteigerte Giftigkeit wurde auch bei Aktinomykose (Meis und Parascandolo), bei Pellagrakranken, falls sie Maiskost zu sich nahmen (Brugnola),

[1]) Bouchard, a. a. O. S. 727 u. 1127. — G. Astolfoni und F. Soprana, Arch. ital. d. biol. 41. 46. 1904. — A. Beck, Pflügers Arch. 71. 560. 1898.

[2]) Charrin und Roger, Comptes rendus de la Soc. de Biol. 1887. S. 145; Jahresber. f. Thierchem. 1887. S. 430. — Cassata, Zentralbl. f. inn. Med. 20. 1187. 1899.

[3]) K. Hein, Diss. St. Petersburg 1904, zit. nach Jahresb. f. Tierch. 34. 381. — Lannelongue und Gaillard, Compt. rend. Acad. d. Scienc. 128. 1493. 1899. — A. Charrin, Compt. rend. Soc. Biol. 52. 587. 1900.

[4]) L. Guinard, Comptes rendus de la Soc. de Biol. (9) 5. 493. 1893; Zentralbl. f. Physiol. 7. 727. — J. Noé, Compt. rend. Soc. Biol. 54. 95. 1902.

Digitized by Google

bei Appendicitis und namentlich bei diffuser Peritonitis (Lannelongue und Gaillard) gefunden. Bei Diphtherie soll nach Mariotti-Bianchi, bei Appendicitis nach Lannelongue die Giftigkeit mit der Schwere des Falles zunehmen. Ebenso ist ikterischer Harn (bei Leberaffektionen), Eiweissharn in Begleitung schwerer Nierenerkrankung, Harn bei Krebskachexie und schwerer Anämie, unabhängig von der Dichte, viel giftiger als der Gesunder. Diabetischer Harn ist, wenn der Kranke nicht kachektisch ist, trotz seiner grossen Dichte nicht giftiger als normaler. Den Harn von Epileptikern fand Lukin[1]) während und bald nach dem Anfall besonders giftig.

Die Symptome, welche der Harn von Kranken bewirkt, sind nach Feltz jedoch keine anderen, als die von normalem Harn hervorgerufenen; der Harn Kranker ist nur darum giftiger, weil er reicher an dem Gift des normalen Harns ist. Lépine und Aubert[2]) dagegen finden, dass der Fieberharn andere Erscheinungen bewirkt, als der normale, namentlich klonische Krämpfe.

Beachtenswert ist in dieser Hinsicht auch, dass, wie Charrin[3]) angibt, der Harn Ikterischer bei intestinaler Antisepsis an Giftigkeit verliert.

Verminderte Giftigkeit des Harns sah Gönner bei Schwangeren und Christiansen bei Geisteskranken, während Stefani bei diesen grosse Unregelmässigkeit in der Ausscheidung toxischer Stoffe im Urin, deren Wirkung er genauer analysierte, fand. Experimentell erreichte Marcantonio[4]) eine Herabsetzung der Harngiftigkeit bei Hunden durch Milzexstirpation.

Die Giftwirkung des Harns, wie sie nach Bouchard ermittelt wird, setzt sich aus einer Reihe von Komponenten zusammen. Die intravenöse Injektion grosser Flüssigkeitsmengen, selbst wenn sie dem Blutserum isotonisch sind, wirkt schädlich, namentlich wenn der Einfluss schnell erfolgt, und Bouchard injiziert 15—20 ccm pro Minute (Albu). Von grösserer Bedeutung ist die Anisotonie des Harns im Vergleich zum Blut des Versuchstiers (Hymans v. d. Bergh, Claude und Balthazard, Quinton[5]) u. a.). Diesen Faktor der „Osmotoxicität“ auszuschliessen, bereitet experimentelle Schwierigkeiten. Verdünnt man den meist hypertonischen Urin bis auf eine Konzentration, bei welcher der Gefrierpunkt des Harns gleich dem des Kaninchenserums

[1]) V. Feltz und P. Ehrmann, Comptes rendus **102**. 880. 1886; **104**. 1877. 1887. — V. de Meis und C. Parascandolo, Gazz. d. Ospedali **1898**. 676, zit. nach Jahresb. f. Tierch. **28**. 681. — A. Brugnola, Ann. d. fac. di med. dell' Univ. di Perugia **11**. H. 2. 1899, zit. nach Jahresb. f. Tierch. **29**. 817. — Lannelongue und Gaillard, Compt. rend. Acad. d. Sc. **128**. 1493. 1899. — Mariotti-Bianchi, Il Morgagni **1900**. Nr. 6, zit. nach Jahresb. f. Tierch. **31**. 831. — Lannelongue, Bull. de l'Acad. d. méd. d. Paris (3) **57**. 691, zit. nach Jahresb. f. Tierch. **37**. 835. — Th. Lukin, Petersburger med. Wochenschr. 1898. Beil. S. 66., zit. nach Jahresb. f. Tierch. **28**. 682.

[2]) Lepine und Aubert, a. a. O.

[3]) Charrin, Journ. de Chim. et de Pharm. **16**. 241. 1887; Arch. d. Pharm. (3) **25**. 1027.

[4]) A. Gönner, Zentralbl. f. Gynäkol. **25**. 837. 1901. — V. Christiansen, Diss. Kopenhagen 1898, zit. nach Jahresb. f. Tierch. **29**. 850. — U. Stefani, Rivista sperimentale di freniatria 1900, zit. nach Jahresb. f. Tierch. **30**. 875. — Marcantonio, Clinica med. italiana 1900. Nr. 2, zit. nach Jahresb. f. Tierch. **30**. 911.

[5]) A. Albu, Virch. Arch. **166**. 77. 1901. — A. Hymans van den Bergh, Zeitschr. f. klin. Med. **35**. 53. 1898. — H. Claude et Balthazard, Compt. rend. Soc. Biol. **52**. 524. 1900 und Journ. d. physiol. **1**. 495. 1899. — R. Quinton, Compt. rend. Soc. Biol. **52**. 563 u. 607. 1900.

Digitized by Google

ist, so wird einmal die Flüssigkeitsmenge stark vermehrt, und ausserdem wird bei der osmotischen Sonderstellung des Harnstoffs gegenüber den Blutkörperchen eine solche nach der kryoskopischen Methode isotonisch gemachte Harnlösung sich den Blutkörperchen gegenüber nicht isotonisch erweisen. Claude und Balthazard haben deshalb versucht, experimentell zu bestimmen, bei welcher Verdünnung der Urin, stets auf die gleiche Menge des unverdünnten Harns berechnet, die geringste Giftigkeit zeigt. Sie nehmen an, dass an diesen Punkt weder die Hypertonie noch die Hypotonie der Lösung als schädliche Komponente sich zu der wirklichen chemischen Giftwirkung des Harns hinzugeselle. Das Minimum der Giftwirkung oder der Ausschluss der Osmotoxicität war durchschnittlich dann erreicht, wenn $\triangle$ zwischen 0,55 und 0,56^{0} lag. Aus ihren Versuchen berechneten sie eine empirische Formel, nach der sie die chemische Giftwirkung aus der Gesamtgiftwirkung ableiteten, und fanden für einen normalen Menschenharn (1 Toxie = 40 ccm), dass etwa 24 % der Gesamttoxicität durch die Osmotoxicität bedingt war. — Bei Anwendung dieser Berechnung, die annähernd richtige Resultate geben soll, lässt sich die Verdünnung des Harns mit ihren schädlichen Einflüssen vermeiden. Prinzipiell unrichtig erscheint es mir, die intravenöse Injektion durch die subkutane zu ersetzen. Man vermeidet dann zwar den Fehler der Osmotoxicität (Charrin, Posner und Vertun[1])), aber man übersieht die Giftwirkung der Substanzen, die überhaupt oder wenigstens in den geringen Mengen, die im Harn davon vorhanden sind, nur von der Blutbahn aus wirksam sind.

Unter den Substanzen, welche die chemische Giftwirkung des Harns bedingen, spielen die Kalisalze eine grosse Rolle. So erklärt sich wohl auch die erwähnte, wesentlich höhere Giftigkeit des Harns der Pflanzenfresser.

Es hat sich aber doch herausgestellt, dass die Giftigkeit des Harns zu seinem Gehalt an Kali in keinem einfachen Verhältnis steht, dass der Harn giftiger ist als die Harnasche, und dass vom Kali befreiter Harn nach Schiffer, sowie nach Charrin und Roger[2]) noch giftig ist.

Von der Giftigkeit des Tagharns entfällt nach Bouchard $^1/_5$, von der des Nachtharns $^1/_3$ auf das Kali. Nach Charrin und Roger beruht beim Harn des Menschen die Giftigkeit zu höchstens 45 % auf der Wirkung des Kalis, beim Kaninchenharn zu 75—80 %, beim Harn des Meerschweinchens zu 71—80 %, bei dem

[1]) A. Charrin, Compt. rend. Soc. Biol. **52**. 587. 1900. — C. Posner und M. Vertun, Berliner klin. Wochenschr. **1900**. S. 75.

[2]) Schiffer, Du Bois' Arch. 1883. S. 127; Deutsche med. Wochenschr. 1883. S. 229; Verhandl. des 3. Kongresses f. innere Med. 1883/84. S. 13. — Charrin und Roger, Comptes rendus de la Soc. de Biol. 1886. S. 607; Jahresber. f. Tierchem. **16**. S. 489 u. a. a. O.

Digitized by Google

des Hundes zu 71 %. Nach einer Berechnung von Singer[1]) kommen beim Menschen 46 %, beim Kaninchen 73 % des urotoxischen Koeffizienten durchschnittlich auf die Kaliwirkung.

Wenn man nach Lépine und Aubert vom normalen Harn 60 ccm braucht, um einen Hund zu töten, braucht man dazu für einen Hund gleicher Grösse und gleicher Rasse die Asche von 65 ccm desselben Harns. Vom Harn Fiebernder entsprechen 25 ccm der Asche aus 40 ccm desselben Harns.

Ausser den Kaliumsalzen sind vermutlich noch eine Reihe von normalen anorganischen und organischen Harnbestandteilen an der Giftwirkung beteiligt. Von einigen, wie dem Methyl- und dem Dimethylguanidin, dem Methylpyridylammoniumhydroxyd, dem Carnitin (Novain) bezw. seinen Abkömmlingen und dem Körper von Pouchet, ist dies in den betreffenden Kapiteln besonders hervorgehoben.

Einige qualitative Nachweisversuche lassen es auch zum mindesten möglich erscheinen, dass geringe Mengen von Adrenalin im normalen Harn sich finden (Schur), doch ist der Beweis für den Übergang von Adrenalin in den Harn noch nicht erbracht. Auch das Vorkommen von Substanzen, die beim enukleierten Froschauge die Pupille erweitern, kann vielleicht, aber muss nicht auf die Anwesenheit von Adrenalin zurückgeführt werden (Diem[2])).

Den Hauptanteil an der Giftwirkung dürften Substanzen haben, deren chemische Natur noch nicht aufgeklärt ist.

Nach den Bestimmungen von Billard und Perrin[3]) erniedrigen die Harngifte die Oberflächenspannung des Harns. Sie fanden ganz regelmässig bei allen untersuchten Harnen, dass die Harne mit grösserer Oberflächenspannung weniger giftig sind als die mit geringerer. Die folgende Tabelle aus Perrins Arbeit gibt einen Überblick über ihre Beobachtungen an Harnen von gesunden und kranken Menschen:

Oberflächenspannung	1 Urotoxie entspricht ccm Harn
5,76	13
5,88	17
6,02	20
6,15	27
6,22	34
6,34	40
6,49	45
6,60	48
6,88	53
7,09	81
7,13	88
7,25	96
7,41	164

[1]) H. Singer, Arch. internat. de pharmacodyn. 8. 221. 1901; dort Lit.

[2]) Schur, Wiener klin. Wochenschr. 1909. Nr. 46. — M. Diem, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 94. 174. 1908.

[3]) G. Billard et Perrin, Compt. rend. Soc. Biol. 58. 55. 1905 und G. Perrin, Relation entre la tension superficielle des urines et leur toxicité. Thèse de Lyon 1906.

Digitized by Google

Im folgenden sollen die bisher unternommenen Versuche zur Isolierung der giftigen Substanzen einzeln beschrieben werden. Diese Versuche lassen bereits den Schluss zu, dass sich sowohl unter den nicht dialysabeln wie unter den dialysabeln Harnbestandteilen solche mit Giftwirkung finden. Inwieweit bei der Wirkung der nicht dialysierenden Substanzen die im Harn nachgewiesenen Fermente eine Rolle spielen, ist noch nicht untersucht. Die Beobachtung von Bouchard, Balthazard und Camus[1]), dass durch Erhitzen auf 57° die Giftigkeit des Harns auf fast $^1/_3$ herabgesetzt wird, zeigt, dass jedenfalls thermolabile Substanzen sich unter den Harngiften befinden.

Mme. Eliacheff hat zuerst darauf hingewiesen, dass der nicht dialysable Anteil aus normalem Harn Giftwirkungen entfalte. Wenn Sasaki die nicht dialysablen Stoffe sehr viel weniger giftig fand, so kann das an kleinen Änderungen der Darstellungsmethode liegen. Sasaki fällte den eingeengten Harn vor der Dialyse mit Kalkhydrat und Chlorcalcium, wobei kolloide Stoffe mit in den Niederschlag gerissen sein können. Die Erfahrungen von Bergmann, Savarè (bei Eklampsieharnen), Marino Zuco, Geelhorn, Abelous und Bardier („Urohypotensin") bestätigen, dass den nicht dialysabeln Bestandteilen Giftwirkungen zukommen. Bis zu einem gewissen Grade gilt das auch für die Beobachtungen von Mairet und Bosc, welche die Harnfarbstoffe als die ausschliesslichen Träger der Giftwirkungen ansprechen, ohne auszuschliessen, dass die Giftstoffe jenen nur beigemengt waren, und für den Befund von Bénech, dass Tierkohle einen erheblichen, aber wechselnden Anteil der Giftstoffe zurückhält. Unter den nicht dialysabeln Stoffen wird man bei Infektionskrankheiten auch sogenannte Toxalbumine parasitärer Herkunft finden. So beschreibt Dorland im Harn eines an Orchitis Erkrankten eine solche eiweissartige Substanz, die aus dem dialysierten Harn mit Alkohol gefällt wurde und, in den Hoden eines Hundes injiziert, Orchitis hervorrief. Diphtherietoxin dagegen ist nach intravenöser Injektion bei Tieren im Harn nach Cobbet und Kanthack nicht nachzuweisen. Auch die von Schattenfroh[2]) beobachteten „lysogenen" Stoffe des Harns sowie das von H. Pfeiffer nachgewiesene Harnagglutinin sind nicht dialysabel.

---

[1]) Ch. Bouchard, Balthazard et J. Camus, Compt. rend. Acad. d. Sciences **147**. 208. 1908.

[2]) P. Eliacheff, Mém. de la Soc. de Biol. (9) **3**. 71. 1891 und Thèse de Paris 1905. — K. Sasaki, Hofmeisters Beitr. **9**. 392. 1907. — E. Bénech, Compt. rend. Soc. Biol. **52**. 805. 1900. — A. Dorland, Compt. rend. Soc. Biol. **54**. 594. 1902. — H. Cobbet u. A. A. Kanthack, Zentralbl. f. Bakteriol. **24**. 129. 1898. — A. Schattenfroh, Ztschr. f. Hygiene u. Infektionskr. **44**. 339. 1902.

Digitized by Google

Andererseits haben eine Reihe von Forschern[1] (Selmi, Bouchard, Gardeur, Dresbach, Guillemard und Vranceanu, Abelous und Bardier u. a.) mit Verfahren, die zur Isolierung von Alkaloiden verwendet werden, giftige Substanzen von zum Teil recht charakteristischen Wirkungen erhalten, und H. Pfeiffer sah die lokale, nekrotisierende und die neurotoxische Wirkung der alkohollöslichen Rückstände des im Vakuum bei 40^0 eingedampften Harns bei der Dialyse durch Pergament verschwinden. Guillemard und Vranceanu berechnen aus ihren Versuchen, dass ungefähr $^1/_5$—$^1/_4$ der Gesamttoxicität auf die „Alkaloidgiftigkeit" kommt. Das durch die Alkaloide bewirkte Vergiftungsbild war ungefähr das gleiche wie das nach der Injektion des Gesamtharns, es wechselte aber bei verschiedenen normalen Harnen, was auf verschiedenartige Zusammensetzung der Alkaloide zurückgeführt wird.

Abelous und Bardier endlich beschrieben sowohl pressorisch als depressorisch wirkende Substanzen im Urin, die mit Alkohol extrahiert werden können, nicht dialysieren, und beim Schütteln mit Äther in dieses Lösungsmittel gehen.

B. Beschreibung einzelner Darstellungsversuche.

a) Substanzen kolloidalen Charakters.

1. Mairet und Bosc[2]) verfuhren zur Darstellung der Harnfarbstoffe in folgender Weise. Der Harn wird mit Bleiessig ausgefällt, der Niederschlag auf dem Filter mit Wasser gewaschen und darauf in der Kälte so oft mit essigsäurehaltigem Äther behandelt, als dieser noch Farbstoff aufnimmt. Das in Lösung gegangene Blei wird durch Schwefelwasserstoff entfernt, das Schwefelblei wieder mit der Mischung von Essigsäure und Äther gewaschen. Die Lösung wird dann auf dem Wasserbad zur Trockne verdunstet. Um die geringe Menge Farbstoff zu gewinnen, welche der Fällung mit dem Bleiacetat entgeht, wird das gelbe Filtrat mit Tierkohle entfärbt, die Kohle einige Male mit Wasser gewaschen und ihr der Farbstoff durch die möglich geringste Menge Natriumcarbonat entzogen. Das Filtrat vom Bleiniederschlag scheidet ausserdem noch ein goldgelbes Urat ab, welchem der Farbstoff durch essigsäurehaltigen Äther entzogen wird. Die Mischung der drei Präparate in wässeriger Lösung reagiert neutral, besitzt die Farbe und den Geruch des Harns, enthält nur Spuren Harnstoff und Harnsäure und an Mineralsubstanz (Chloride, Sulfate, Phosphate) 0,1 %. Die Lösung des Farbstoffes aus 150 ccm Harn tötet ein Kaninchen ganz unter denselben Erscheinungen wie der Harn selbst. Enthielte der ätherische Auszug auch die Alkaloide des Harns, so können sie nach Mairet und Bosc doch nur in so geringer Menge vorhanden sein, dass ihnen die Giftwirkung nicht zuzuschreiben ist.

[1]) Literaturangaben s. unter B und C.
[2]) Mairet und Bosc, Compt. rend. Soc. Biol. (9) 3. 94. 1891; Zentralbl. f. Physiol. 5. 140.

Digitized by Google

2. Mme. Eliacheff[1]) bediente sich zum Aufsuchen von Ptomainen im Harn der Dialyse.

Der Harn wurde jeden Tag im Vacuum bei 35—37° auf 1/10 seines Volums eingedampft, dann mit einigen Tropfen Blausäure versetzt. Die gewonnenen 4,2 Liter eingedampfter Harn wurden 11 Tage lang dialysiert und die Fäulnis durch Zusatz von Blausäure oder Schwefelkohlenstoff zur Innen- und Aussenflüssigkeit hintangehalten. Als nichts mehr in die Aussenflüssigkeit überging, wurde die Innenflüssigkeit wieder nahe bei Körpertemperatur im Vacuum bis zum Sirup eingeengt und in der Kälte vollends getrocknet. Alle Operationen wurden, mit Ausnahme des Eindampfens, nahe bei 0° vorgenommen, weil sich sonst die Flüssigkeit mit Schimmel bedeckte.

Der nicht dialysierbare Anteil aus normalem Harn wog 5,8 g (138 mg auf das Liter, 193 mg für 24 Stunden), war glasig, durchscheinend, sehr hart, dunkelbraun mit Perlglanz, sehr hygroskopisch, sehr leicht löslich in Wasser, wenig in Alkohol und in Äther, reagierte deutlich sauer, reduzierte in der Kälte Goldchlorid, Platinchlorid, Sublimat, Silbernitrat, gab aber mit Eisenchlorid und Ferricyankalium kein Berlinerblau; Tannin rief einen flockigen, graulich weissen Niederschlag hervor. Die Substanz enthielt nur Spuren Mineralbestandteile und gab bei der Analyse 60,75% C, 9,37 H, 10,94 N, 12,54 O, 3,00 P, 3,40 S, woraus Mme. Eliacheff die Formel $C_{52}H_{96}N_8O_8PS$ ableitet, oder, mit Weglassung von P und S: $C_{13}H_{24}N_2O_2$. Von der Substanz war 0,1 g intravenös für ein Kaninchen nicht tödlich, aber 0,25 g töteten ein Kaninchen von 2,2 kg in 18 Stunden. Injektion von 0,1 g ist beim Menschen von geringem Unwohlsein (leichtem Kopfschmerz) gefolgt.

In derselben Weise wurde der Harn von zwei fieberfreien Tuberkulösen durch 7 Tage verarbeitet. Der nicht dialysierbare Teil betrug für 24 Stunden 180 mg. Die Substanz besass dieselben Eigenschaften wie die aus normalem Harn und enthielt, wie diese, gleichfalls P und S. Die Kranken wurden mit Kochschem Tuberkulin behandelt, worauf Fieber eintrat; der Harn blieb aber eiweissfrei. Der während des Fiebers entleerte Harn lieferte für 24 Stunden 234 mg nicht dialysierbare Substanz von derselben Beschaffenheit wie die aus normalem Harn; dieselbe bestand aber aus 55,59% C, 8,26 H, 13,88 N, 15,87 O, 3,00 P, 3,40 S, ohne Berücksichtigung des P und S = $C_{14}H_{25}N_3O_3$. In der auf die Injektionen folgenden fieberfreien Zeit wurde in 24 Stunden 143 mg nicht Dialysierbares ausgeschieden. Es besass die Eigenschaften und die Zusammensetzung wie das aus normalem Harn. Vor der Injektion des Tuberkulins und in den fieberfreien Zeiten nach derselben war die Substanz in demselben Grade giftig, wie die aus normalem Harn; von während des Fiebers abgesonderter Substanz tötete dagegen 0,1 g ein Kaninchen in 45 Minuten unter denselben (asphyktischen) Erscheinungen, wie der Harn selbst. Injektion von 0,1 g dieser Substanz bewirkt bei Menschen etwas Fieber, Frösteln, ziemlich stark anhaltende Kopfschmerzen, Steifigkeit, beschleunigten Puls, Appetitlosigkeit.

Allem Anscheine nach bestand diese nicht dialysierbare Substanz vorwiegend aus einem Gemenge von Nucleoalbumin und Chondroalbumin (vgl. die mucinähnliche Substanz).

3. Bergman[2]) fällte aus dem dialysierten Harn von gesunden Männern die Eiweisskörper entweder nach vorhergehender Konzentration bei mässiger Tem-

[1]) Mme. P. Eliacheff, Mémoires de la Soc. de Biol. (9) 3. 71. 1891; Zentralbl. f. Physiol. 5. 606.

[2]) P. Bergman, Verh. der Sekt. f. med. Chem. der Vers. nordischer Naturforscher u. Ärzte in Helsingfors 1902, zit. nach Jahresb. f. Tierch., 32. 821.

Digitized by Google

peratur durch absoluten Alkohol oder nach der Methode von K. Mörner (s. nicht dialysable Stoffe des Harns). Die Lösung des Niederschlages wirkte stark giftig auf Kaninchen und Frösche. — Nach der Fällung des Harneiweisses wurden vom Trockenrückstand des Filtrats des dialysierten Harns Wasser-, Alkohol- und Ätherextrakte hergestellt. In den Lösungen waren Substanzen mit ausgeprägter Kurarewirkung, solche, die die Erregbarkeit des Muskels in hohem Grade erhöhen, und solche, die eine zentral lähmende Wirkung ausüben, ohne die periphere Erregbarkeit zu schädigen.

4. Marino Zuco[1]) isolierte eine „Biotoxin" genannte Substanz von starken Giftwirkungen auf folgendem Wege: 50 Liter normalen Menschenharns wurden nach Filtration durch Pukallfilter unter streng aseptischen Kautelen (Versuchsanordnung s. im Original) bei 38° im Vacuum zu etwa 1½ Liter Sirup eingeengt. Dieser Sirup wurde in dünnem Strahl in das siebenfache Volum Alkohol von 90° gegossen. Nach häufigem Umschütteln wurde ein unlöslicher Teil in Form eines flockigen Magma von gelbroter Farbe erhalten, das bald teilweise krystallinisch wurde, und eine wässerig-alkoholische Lösung von tiefroter Farbe. Die klar gewordene Flüssigkeit wurde abgehebert, der Niederschlag von neuem mit Alkohol von 85° geschüttelt und diese Prozedur drei- oder viermal wiederholt, bis die überstehende Flüssigkeit nahezu farblos war. Der Niederschlag wurde abgesaugt und mit neuem Alkohol gewaschen. Die Behandlung von der Alkoholfällung bis zum Absaugen muss möglichst schnell vorgenommen werden, damit das Toxin nicht an Giftigkeit einbüsst. — Der Niederschlag wurde im Vacuum getrocknet, mit ungefähr dem gleichen Volum sterilem, destilliertem Wasser verrieben, damit 12 Stunden in der Kälte stehen gelassen und in einem sterilen Vacuum-Filtrationsapparat filtriert. Die wässerige filtrierte Lösung wurde in einem mit Thymolwasser sterilisierten Dialysator unter Einhaltung strengster Antisepsis etwa 10—15 Tage dialysiert, bis das Aussenwasser keine Phosphatreaktion mit Ammoniummolybdat mehr gab. Das ebenfalls mit Thymol versetzte Aussenwasser wurde täglich gewechselt.

Die dialysierte Flüssigkeit wurde nochmals im Vacuum steril auf ein kleines Volum eingeengt, mit dem fünffachen Volum Alkohol von 90° gefällt und der flockige Niederschlag wie oben behandelt. Der mit Alkohol gewaschene, im Vacuum getrocknete Rückstand wurde in möglichst wenig Wasser aufgenommen und schliesslich mit Alkohol von 96° gefällt. Wenn die wässerige Flüssigkeit genügend gereinigt und namentlich vollkommen salzfrei geworden war, blieb bei der Alkoholfällung das Toxin in Form einer kaum opaleszierenden Flüssigkeit gelöst, aber auf Zusatz einer kleinen Menge Kochsalz wurde es als flockiger Niederschlag erhalten. Die Menge des amorphen, vollkommen weissen, in Alkohol unlöslichen Pulvers, die so erhalten wurde, betrug 0,3—0,5 g pro Liter Urin.

Die Substanz bleibt in trockner Luft unverändert, an feuchter Luft wird sie braun und büsst dann von ihrer Giftigkeit ein. Sie enthält Stickstoff, Schwefel und Phosphor und gibt die Liebermannsche und die Xanthoprotein-Reaktion der Eiweisskörper. Eine fermentative Wirkung konnte nicht nachgewiesen werden. Auch im Harn von Carnivoren und Herbivoren findet sie sich in annähernd gleicher Menge.

Die Giftwirkung des Toxins beschreibt Onorato[2]) folgendermassen: Schon 1 mg tötet bei subkutaner Injektion ein Meerschweinchen im Verlauf von mehr als 1 Monat. Die Wirkung ist vorwiegend lähmend oder krampferregend, je nach der angewandten Dose. Schliesslich tritt stets ein komatöser Zustand ein. Ausgesprochen ist die Wirkung auf die Körpertemperatur: hohe Dosen (0,2 g) setzen sie sofort stark herab, mittlere Dosen (0,05—0,1 g) erhöhen die Temperatur anfangs, später sinkt sie, und es tritt Kollaps und Tod ein. Pathologisch-anatomisch

[1]) F. Marino Zuco, Archivio di fisiologia 1. 513 1904. — F. Marino Zuco e R. Onorato, ebenda 2. 389. 1905.
[2]) R. Onorato, Archivio di fisiologia 1. 534. 1904.

Digitized by Google

sind sulziges Ödem, das von der Injektionsstelle ausgeht, Kongestion der inneren Organe, ganz besonders der Nebennierenrinde und parenchymatöse Nephritis festgestellt.

Im Urin von Nephritikern fanden Marino Zuco und Onorato das Biotoxin in verminderter Menge. Sie halten es deshalb für wahrscheinlich, dass es bei Nephritikern im Körper zurückgehalten wird und die Symptome der Urämie veranlasst.

5. Savarè[1]) dialysierte Harn in Schilfschläuchen nach dem von Sasaki ausgearbeiteten Verfahren der „Schütteldialyse" 24 Stunden lang. (Genaueres s. im Kap. „Nicht dialysable Substanzen".) Zur möglichst vollständigen Entfernung von Eiweiss wurde der Harn mit 2 Vol. Alkohol bei saurer Reaktion versetzt und einige Stunden auf dem siedenden Wasserbad stehen gelassen. Das Filtrat vom Koagulum nebst Waschwasser wurde im Vacuum bei niederer Temperatur auf ein kleines Volum gebracht und dialysiert. Im Vergleich mit normalen Harnen lieferte der Harn Eklamptischer sehr viel grössere Mengen adialysabler Stoffe: zwischen 2,25 und 13,84 g statt 0,44—0,6 g im Liter. Der Eiweissgehalt des ursprünglichen Harns war dabei nicht von Bedeutung. Das chemische Verhalten wich ebenfalls gegen das der Substanzen aus normalem Harn etwas ab. Der Rückstand verbrannte auf dem Platinblech ohne Karamelgeruch, gab deutliche Millonsche und Schwefelblei-Probe, schwache Xanthoprotein- und Adamkiewiczsche Reaktion. Phosphor schien reichlicher als sonst vorhanden. Die Probe auf Chondroitinschwefelsäure mit Eiweiss war eben nur angedeutet. Vielleicht wird die Chondroitinschwefelsäure bei der Eiweisskoagulation, die in saurer Lösung erfolgen muss, mit entfernt.

Das im nicht dialysablen Rückstand enthaltene Stoffgemenge zeigte stets Giftwirkungen; ungefähr 0,06 g töteten ein Kaninchen im Gewicht von 1500 g. Die Tiere verfielen in einen soporösen Zustand, dann in klonisch-tonische Krämpfe von wechselnder Dauer, es folgte Paralyse der hinteren Körperhälfte, heftige Dyspnoe, Mydriasis, Koma. Manchmal wiederholten sich die Krampfanfälle, bis der Tod unter Erscheinungen von Asphyxie eintrat. Der Verlauf der Vergiftung währte etwa 2—12 Stunden. In den nicht tödlichen Fällen erfolgte die Erholung nur langsam. Die Autopsie ergab zahlreiche Ekchymosen in Pleura, Perikard und Endokard, kleine parenchymatöse Blutungen in Thymus, Leber und Nieren.

Im Harn Tuberkulöser wurde eine Substanz von gleicher chemischer Beschaffenheit und physiologischer Wirkung gefunden.

Früher hatten Charrin und Le Noir[2]), als sie den löslichen Anteil mit Alkohol gefällten Harns von fiebernden Tuberkulösen Kaninchen subkutan injizierten, Gefässerweiterung eintreten sehen.

6. Wird Harn mit Bleiacetat gefällt, im Filtrat das überschüssige Blei mit konzentrierter Natriumphosphatlösung entfernt, das Filtrat vom Bleiphosphat im hohen Vacuum eingeengt und das eingeengte Filtrat wiederholt im Eisschrank gegen destilliertes Wasser dialysiert, so enthält die Dialysatorflüssigkeit eine giftige Substanz von den Eigenschaften des Weichardtschen Kenotoxins oder Eiweissabspaltungsprodukts von Ermüdungstoxincharakter. Dieses Toxin wird ausser durch seine physiologische Wirkung hauptsächlich dadurch charakterisiert, dass es bei Tieren, die das Antitoxin erhalten haben, nicht wirkt, dass es also durch einen — allerdings nicht streng spezifischen — Antikörper abgesättigt werden kann. Weichardt fand das „Kenotoxin" im Harn von Säugetieren und namentlich in den Exkrementen gut fliegender Vögel, Gellhorn[3]) auch in dem Dialysierrückstand des schwach angesäuerten Harns von magendarmkranken Säuglingen mit einem bestimmten Symptomenkomplex.

[1]) M. Savarè, Hofmeisters Beitr. **9**. 401. 1907 und **11**. 71. 1907.

[2]) Charrin und Le Noir, Compt. rend. Soc. Biol. (9) **5**. 769. 1893.

[3]) W. Weichardt, Zentralbl. f. Bakteriol. **43**. 312. 1907. — W. Gellhorn, Münch. med. Wochenschr. **1908**. S. 845.

Digitized by Google

7. Abelous und Bardier [1]) isolierten aus normalem Menschenharn eine Substanz (oder Substanzen), der sie den Namen „Urohypotensin" beilegten, auf folgende Weise: 4 oder 5 Liter Urin werden auf ein Volum von 500 bis 600 ccm eingedickt. Die durch Ausscheidung von Erdalkalisalzen trübe Flüssigkeit wird mit dem zehnfachen Volum Alkohol von 95° gefällt und nach 24 stündigem Stehen der Alkohol abfiltriert. Der lufttrockne Filterrückstand wird mit einem kleinen Volum Wasser aufgenommen und die Lösung unter Thymolzusatz 48 Stunden gegen fliessendes Wasser dialysiert. Die dialysierte Flüssigkeit wird mit dem zehnfachen Volum absolutem Alkohol gefällt. Der Niederschlag wird gesammelt und im Vacuum bei niedriger Temperatur getrocknet. Man erhält so 0,5—0,6 g eines weisslichen, wasserlöslichen Pulvers, das die Reaktionen einer Albumose gibt. Die Lösungen werden durch Kochen im allgemeinen nicht koaguliert, geben aber zuweilen bei 60—65° eine leichte Trübung.

Man kann die wirksame Substanz auch durch Sättigen des Urins mit Ammonsulfat, Auswaschen des Niederschlags mit gesättigter Ammonsulfatlösung und absolutem Alkohol (zur Entfernung des Urobilins) erhalten. Der Niederschlag wird dialysiert und die dialysierte Lösung wie oben mit absolutem Alkohol gefällt.

Das „Urohypotensin" bewirkt nach Injektion einiger Zentigramme in die Vene eines Kaninchens oder Hundes eine Verengerung der Pupille bis zur Punktform, die 15—25 Minuten anhält und wahrscheinlich auf einer peripheren Okulomotoriusreizung beruht. Gleichzeitig tritt Hyperämie der Ohr- und Konjunktivalgefässe von kurzer Dauer, eine eigentümliche Stumpfheit bei erhaltener Sensibilität, Verlangsamung der Respiration und Temperaturerniedrigung ein. Weitere Symptome sind Tränensekretion und Speichelfluss, ein Symptom, das nach Injektion des Urins im ganzen von Charrin und Mavrojannis [2]) schon lange beobachtet war, beim Hunde auch Erbrechen. Der Blutdruck sinkt beim Hund um 60 bis 100 mm Hg. Die Blutdrucksenkung ist eine periphere Wirkung, sie beruht wahrscheinlich auf einer Vasodilatatoren-Reizung, die namentlich an den Gehirngefässen sich manifestiert. Die Tiere gehen meist nach scheinbarer Wiederherstellung unter Abmagerung und Erscheinungen einer parenchymatösen Nephritis nach einigen Tagen zugrunde. Bei Injektion von 10—15 cg pro Kilo sterben die Tiere nach etwa 2 Stunden im Coma. Bei noch höheren Dosen treten kurzdauernde Krampfanfälle auf, die nicht auf intravaskuläre Gerinnungen zurückzuführen sind. — Bei der Sektion findet man Kongestion der Lungengefässe mit Infarkten, starke Hyperämie der Hirngefässe, eventuell Nephritis.

Erhitzt man die Lösungen von Urohypotensin einige Minuten auf 110—120°, oder schüttelt man sie mit Tierkohle, so verlieren sie ihre Wirkung. Kurzes Aufkochen ändert die Wirksamkeit nicht merklich.

Abelous und Bardier [3]) glauben einen wesentlichen Teil der urämischen Symptome beim Menschen auf die Zurückhaltung des Urohypotensins zurückführen zu dürfen.

Nach Pearce [4]) verursacht die Injektion von 3 ccm Hundeurin in die Venen eines anderen Hundes bei diesem sofortiges Sinken des Blutdrucks. Diese Wirkung des normalen Harns fehlt oft den Harnen von Hunden mit Läsionen der Nierentubuli (Chromat- und Urannephritis), während bei Läsionen der Glomeruli (Arsen- und Kantharidinnephritis) die depressorisch wirkende Substanz im Harn erscheinen soll (vgl. dazu

[1]) J. E. Abelous et E. Bardier, Journ. de physiol. et de path. gén. **11**. 777. 1909.

[2]) Mavrojannis, Compt. rend. Soc. Biol. **50**. 638. 1898. — Charrin, Diskussionsbemerkung.

[3]) Abelous und Bardier, Compt. rend. Soc. Biol. **69**. 121. 1910.

[4]) R. M. Pearce, Proc. Soc. exper. biol. and med. New York **6**. 129. 1909.

Digitized by Google

die Beobachtungen von Marino Zuco und Onorato über die verminderte Ausscheidung ihres „Biotoxins" bei Nephritikern, S. 732).

b) Substanzen von Alkaloid-Charakter.

1. Selmi[1]) hat aus pathologischen Harnen bereits 1880 eine Anzahl Basen dargestellt.

Die Untersuchungen betrafen je einen Fall von progressiver Paralyse (zweimalige Untersuchung), von infektiöser Pneumonie mit Albuminurie, Icterus und zwei Fälle von Ileotyphus.

Der Harn wurde mit Baryumhydrat schwach alkalisch gemacht, mit absolutem Alkohol vollständig gefällt und vom schwach alkalischen Filtrat der Alkohol im Kohlensäurestrom abdestilliert. Das Destillat enthielt in fünf Fällen einen neutralen, phosphorhaltigen Körper und eine Basis, die als Chlorhydrat dargestellt wurde. Der Destillationsrückstand wurde mit Baryumhydrat alkalisch gemacht, mit Äther ausgeschüttelt und die in Lösung gegangene Basis gleichfalls an Salzsäure gebunden.

Keine der gewonnenen Basen stimmte mit einer anderen in den Reaktionen überein. Bei der gleichen Methode gewonnene Basen waren giftig und nicht giftig. Sie rochen nach Nikotin, Coniin, faulen Fischen oder ammoniakartig; eine derselben nennt Selmi wegen ihres Nikotingeruchs Pseudonikotin. Die Chloride der mit Alkohol flüchtigen Basen krystallisierten zum Teil und waren zum Teil zerfliesslich. Mit Platinchlorid gab eine keinen Niederschlag, die anderen Oktaeder oder Dodekaeder, eine gekreuzte Krystalle. Goldchlorid gab nichts, oder Trübung, oder Oktaeder, oder gelbe Prismen. Sublimat gab einmal einen weissen amorphen Niederschlag, einmal kurze Prismen. Jodjodwasserstoff lieferte einmal einen ziegelroten Niederschlag, einmal einen braunen amorphen, sonst braune Plättchen oder Nadeln, einmal stahlgraue Krystalle. Jodwismuthkalium gab mennig- oder zinnoberrote Niederschläge, einmal Nadeln. Nesslersches Reagens fällte gelb, Pikrinsäure gab nichts oder gelbe amorphe und krystallinische Niederschläge, Tannin Trübung. Phosphorwolframsaures Natron fällte nicht.

Die Reaktionen der aus dem Destillationsrückstand gewonnenen Basen waren nicht minder mannigfaltig als die der anderen. Selmi behauptet nicht, dass jede der aufgefundenen Basen ein chemisches Individuum gewesen sei. Mit Mono-, Di- oder Trimethylamin sowie mit Propylamin waren sie nicht identisch. Er nennt sie **Pathoamine**.

Die zunächst folgenden Untersuchungen des Harns sind in der Weise ausgeführt worden, dass der alkalisch gemachte Harn mit Äther ausgeschüttet wurde, also nach demselben Prinzip, nach welchem, nach Stas-Otto, bei Vergiftungsfällen die Alkaloide aufgesucht werden.

2. Bouchard[2]) wies auf diese Art im normalen Harn einen in Äther und einen zweiten, nicht in Äther, aber in Chloroform löslichen, alkaloidartigen Körper nach.

Der normale Harn (4 Liter) wurde vor der Behandlung mit den Lösungsmitteln eingedampft. Doch war das (in Äther lösliche) Alkaloid bei der Unter-

[1]) Selmi, Annali di Chim. e di Farmacol. S. 3. 1888; Chem. Zentralblatt 1888. S. 1554.

[2]) Ch. Bouchard, Revue de méd. **2**. 825. 1882.

suchung von vier verschiedenen Harnen nur dreimal aufzufinden. Beide Alkaloide sind in sehr grosser Menge auch in frischen Stühlen (bei Gesunden, bei putrider Diarrhöe und bei Typhus) vorhanden. Die im Harn befindlichen verhalten sich gleich denen im Kot in bezug auf die Löslichkeit. Im Harn tritt um so mehr Alkaloid auf, je mehr davon der Kot in löslicher Form enthält; bei putrider Diarrhöe kommt im Harn 40—50 mal soviel vor wie normal. Von den im Kot auftretenden Substanzen gibt Bouchard an, dass sie mit Jodquecksilberkalium bald einen in der Wärme unlöslichen Niederschlag geben, bald keinen; durch Jodjodkalium werden sie reichlich gefällt. Die in Äther löslichen geben in der Regel mit Ferricyankalium und Eisenchlorid sofort Blaufärbung, die mit Chloroform extrahierten dagegen nur sehr langsam.

Aus dem mit Natron alkalisch gemachten Harn einer grossen Anzahl Fälle von Typhus, zweier Fälle von infektiöser Pneumonie, je eines Falles von Pleuritis und Ikterus, die beide infektiös waren, hat Bouchard [1]) durch Schütteln mit Äther basische Substanzen gewonnen, die nach dem Verdunsten des Äthers, in verdünnter Schwefelsäure gelöst, mit Jodquecksilberkalium einen gelblich oder grünlich weissen, in der Wärme löslichen und beim Erkalten wieder auftretenden, auch in Alkohol und in Äther löslichen Niederschlag gaben, ferner durch Pikrinsäure hellgelb, durch Jodjodkalium braun gefällt wurden und mit Ferricyankalium und Eisenchlorid Berliner Blau bildeten.

3. Lépine und Guérin [2]) gewannen eine Substanz, deren Lösung in Salzsäure sich als giftig erwies. Die Auszüge aus pathologischem Harn waren giftiger als die aus normalem, und der Auszug aus Typhusharn verhielt sich anders als der aus Pneumonieharn.

4. In ähnlicher Weise stellte Villiers [3]) seine Untersuchungen an.

Es wurden 1—2 Liter Harn nach dem Ansäuern erst in der Wärme, dann im Vacuum verdunstet, der Rückstand mit absolutem Alkohol ausgezogen, das Filtrat im Vacuum verdunstet, der Rückstand in wenig Wasser gelöst, mit kohlensaurem Natron alkalisch gemacht und mit Äther geschüttelt. Dem Äther wurde die in Lösung gegangene alkalische Substanz mit salzsäurehaltigem Wasser entzogen. Die gewonnenen Stoffe gaben dann allgemeine Alkaloidreaktionen.

In seinem eigenen Harn fand Villiers 6 mal kein Alkaloid, dagegen 2 mal bei leichtem Unwohlsein. Im Harn von 9 anderen Personen, die sich für gesund hielten, war nur 2 mal Alkaloid nachweisbar. Es fand sich bei verschiedenen Krankheiten (Masern, Diphtherie, Pneumonie, Phthisis, Kopfabszess), die ohne Verabreichung von Alkaloiden behandelt wurden; bei einem Tetanus war es nicht nachweisbar.

5. Von einer gleichfalls in Äther löslichen alkaloidartigen Substanz fand Aducco [4]), dass sie bei Muskeltätigkeit in vermehrter Menge ausgeschieden wurde.

Der Harn stammte von Soldaten, welche anstrengende Märsche machten. Wenn der Harn nach der Titrierung mit Natronlauge eine geringere als 0,1 % Schwefelsäure entsprechende Menge Säure enthielt, wurde er bis zu diesem Grade mit Weinsäure versetzt, dann, erst bei 35—40°, zuletzt im Vacuum eingedampft, der Rückstand mit reinem Alkohol ausgezogen und die Lösung zur Trockne verdunstet. Der dabei bleibende Rückstand wurde mit Äther gewaschen, mit doppelt kohlensaurem Natron alkalisch gemacht und mit Äther ausgeschüttelt. Die

[1]) Bouchard, Comptes rendus de la Soc. de Biol. (7) 3. 604. 1882.

[2]) Lépine und Guérin, Revue de méd. 1884. S. 767; Lyon méd. 42. 1884; Virchow-Hirschs Jahresber. 1884. 1. 152 u. 212.

[3]) A. Villiers, Comptes rendus 100. 1246. 1885.

[4]) V. Aducco, Arch. de Biol. ital. 9. 203; Zentralbl. f. Physiol. 1888. S. 291.

Digitized by Google

Lösung wurde verdunstet, der Rückstand durch wiederholte Behandlung mit Salzsäure und Äther gereinigt und der Rückstand der alkalischen Ätherlösung mit ein paar Tropfen Salzsäure im Vacuum bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Der Rückstand war nicht krystallinisch. Die freie Basis reagierte stark alkalisch, roch nach frisch gemahlenem Mais oder nach Sperma und gab die gewöhnlichen Alkaloidreaktionen; mit Eisenchlorid und Ferricyankalium lieferte sie Berliner Blau. Das schwer lösliche Platinsalz enthielt 31,02 % Platin. Nach ihren Reaktionen ist die Basis weder Neurin noch Cholin.

Es wurden immer 7—20 Liter Harn in Arbeit genommen. Im Mittel aus 11 Bestimmungen wurde im Liter 5,28 mg (2,32—9,5) Chlorhydrat gefunden. Während des Marsches enthielt der Harn am meisten, vor dem Marsch und den Tag nach dem Marsch am wenigsten.

6. Luff[1]) hat den Harn in einem Fall von Typhus und in mehreren Fällen von Scharlach auf der Höhe des Fiebers nach der unter C. 1. beschriebenen Methode mit Erfolg untersucht; die Kranken erhielten, während der Harn gesammelt wurde, und vorher, keine Alkaloide und keine Antipyretica. Im Harn eines Typhösen vom 22. und 23. Tag mit Temperaturen bis höchstens 37,5° und im Harn Gesunder wurde nichts Derartiges gefunden. Auf die Giftigkeit der Ptomaine wurde nicht untersucht.

Typhus, Harn von vier Tagen bei 39,2—40,0°. Wenig weisse, krystallinische Substanz. Die Lösung derselben in sehr verdünnter Salzsäure gab mit Phosphormolybdänsäure einen weissen Niederschlag, mit Phosphorwolframsäure nichts, Jodquecksilberkalium dichten gelben Niederschlag, Jodlösung braunen Niederschlag, Tannin gelblich braunen Niederschlag, Pikrinsäure dichten gelben Niederschlag, Platinchlorid nichts, Goldchlorid dichten gelben Niederschlag.

Scharlach, 18 Liter Harn. Ptomain halbkrystallinisch, weiss, in Wasser löslich, schwach alkalisch; die Lösung in sehr verdünnter Salzsäure gab folgende Niederschläge: Phosphormolybdänsäure blass gelblichweiss, Phosphorwolframsäure weiss, Jodquecksilberkalium blass gelblichweiss, Jod braun, Pikrinsäure gelb, Goldchlorid geringer gelber Niederschlag. Tannin und Platinchlorid fällten nicht.

7. A. B. Griffiths macht über eine ganze Reihe bei verschiedenen Krankheiten im Harn auftretender Alkaloide Angaben. Im normalen Harn kommen sie nicht vor.

Ich kürze ab: Niederschlag = N., Reagens = R., Tannin = T., Pikrinsäure = P., Phosphorwolframsäure = Pwfs., Phosphormolybdänsäure = Pbds. Der Beschreibung der Substanz füge ich sogleich das Zitat hinzu, Comptes rendus = C. r.

a) Parotitis. $C_6H_{13}N_3O_2$ (isomer mit Lysatin), weisse Prismen, löslich in Wasser, Äther, Chloroform, neutral, bitter. Das Chlorhydrat und das Chloroplatinat krystallisieren. N. mit Pbds. goldgelb, mit Pwfs. weiss, K_2HgJ_4 hellgelb, T. braun. Beim Kochen mit Quecksilberoxyd entstehen nacheinander Kreatin-Methylguanidin und Oxalsäure, wonach die Basis Propylglykocyamin (Propylkreatin) wäre. Sehr giftig, bewirkt bei der Katze Erregung, Stillstand der Speichelsekretion, Krämpfe, Coma und Tod. (C. r. **113**. S. 656; Chem. News. **61**. S. 87; Chem. Zentralbl. 1890. 1. 689.)

b) Scharlach. $C_5H_{12}NO_4$ (?), weiss, krystallinisch; löslich in Wasser mit schwach alkalischer Reaktion. Chlorhydrat und Chloraurat krystallinisch. Mit Pbds.

[1]) A. T. Luff, A new method of extracting ptomaines. — Thesis for the degree of M. D. of the University of London 1888; Brit. med. Journ. 1889. II. 193.

Digitized by Google

gelblichweisser N., mit Pwfs. weisser N., mit P. gelber N. Wird auch durch Nesslersches R. gefällt. Entsteht auch mit reinen Kulturen von Microc. scarlatinae (?) auf Peptongelatine. (C. r. **113**. 656. 1891.)

c) Diphtherie. $C_{14}H_{17}N_2O_6$ (?), weiss, krystallinisch. Bildet Chlorhydrat und Chloraurat. N. mit T. gelb, mit Pbds. weiss, P. gelb, Nesslersches R. braun. Entsteht auch in Kulturen des Bac. diphth. Nr. 2 von Klebs und Loeffler. (Daselbst.)

d) Masern. $C_3H_5N_3O$ (Glykocyamidin), weisse Täfelchen, mit alkalischer Reaktion löslich in Wasser. Chloroplatinat $(C_3H_5N_3O)_2H_2PtCl_6$, mikroskopische Nadeln. Die Verbindung mit Sublimat bildet fast unlösliche prismatische Nadeln. Gibt N. mit P., Pbds. und Pwfs. Sehr giftig, ruft bei der Katze Fieber (40°) und in 36 Stunden den Tod hervor. (C. r. **114**. 497. 1892.)

e) Keuchhusten. $C_{15}H_{19}NO_2$, weiss, krystallinisch, löslich in Wasser, bildet ein Chlorhydrat und ein Chloraurat. N. mit Pbds. weiss, P. gelb, T. braun. Entsteht auch in Kulturen des Keuchhusten-Bacillus von Afanasieff. (Daselbst.)

f) Rotz. $C_{15}H_{10}N_2O_6$, weiss, krystallinisch, löslich in Wasser, alkalisch. Das Chlorhydrat, Chloraurat und Chloroplatinat krystallisieren. Grünlicher N. mit Pwfs., bräunlich weisser mit Pbds., gelber mit P., wird auch durch Nesslersches R. gefällt. Entsteht auch in Kulturen des Bac. mallei. Bewirkt subkutan beim Kaninchen einen Abszess an der Injektionsstelle, spezifische Knoten in Lunge und Milz, metastatische Abszesse und den Tod. (C. r. **114**. 1382. 1892.)

g) Pneumonie. $C_{20}H_{26}N_2O_3$, weisse Nadeln, in Wasser löslich, alkalisch, bildet ein Chlorhydrat, Chloraurat, Chloroplatinat. Weisser N. mit Pwfs., gelblich weisser mit Pbds., bräunlicher mit Nesslerschem R., gelber etwas löslicher mit P. Dreht rechts, $[\alpha]_D = 23{,}5°$. (Daselbst.)

h) Epilepsie. $C_{10}H_{15}N_5O_7$, weisse schiefe Prismen, löslich in Wasser, alkalisch. Das Chlorhydrat und das Chloraurat krystallisieren. N. mit $HgCl_2$ grünlich weiss, $AgNO_3$ gelblich, Pwfs. weiss, Pbds. bräunlich weiss, T. gelb. Verursacht Zittern, Stuhl- und Harndrang, Erweiterung der Pupillen, Krämpfe, Tod. (C. r. **115**. 185. 1892.)

i) Erysipel. $C_{11}H_{13}NO_3$, orthorhombische Platten, löslich in Wasser, schwach alkalisch. $HgCl_2$ gibt weissen N., $ZnCl_2$ körnigen, in der Wärme unter Zersetzung löslichen N., Nesslersches R. grünen N., P. gelben etwas löslichen N., Goldchlorid gelben, in Wasser löslichen N. Das Chloroplatinat $(C_{11}H_{13}NO_3)_2H_2PtCl_6$ bildet prismatische Nadeln. Wird auch gefällt durch Pwfs., Pbds., T. Sehr giftig, erregt Fieber und tötet in 18 Stunden. (C. r. **115**. 667. 1892; Bull. de la Soc. chim. [3] **7**. 250.)

k) Kindbettfieber. $C_{22}H_{19}NO_2$, weiss, krystallinisch, löslich in Wasser, alkalisch. Das Chlorhydrat und das Chloraurat krystallisieren. Mit T. roten N., P. gelb, Pbds. bräunlich weiss, wird durch Nesslersches P. gefällt. Sehr giftig, tötet einen Hund in 12 Stunden. (C. r. **115**. 668.)

l) Ekzem. $C_7H_{15}NO$, weiss, krystallinisch, löslich in Wasser, alkalisch; Chlorhydrat, Chloraurat, Chloroplatinat krystallisieren. Pwfs. bräunlicher N., Pbds. gelblich, P. gelb, $AgNO_3$ gelblich, $HgCl_2$ grünlich; auch Nesslersches R. fällt. Lösung in sterilisiertem Wasser verursacht subkutan beim Kaninchen Entzündung an den Einstichstellen, starkes Fieber, Tod. (C. r. **116**. 1205. 1893.)

m) Influenza. $C_9H_9NO_4$, weisse prismatische Nadeln, schwach alkalisch; Chlorhydrat, Chloroplatinat und Chloraurat krystallisieren. Pwfs. bräunlicher N., Pbds. gelblich, P. gelb, T. rot, $HgCl_2$ weiss. Nesslersches R. braun, $ZnCl_2$ fällt nicht. Verursacht starkes Fieber, Tod in 8 Stunden. Verschieden von dem Pneumonie-Ptomain. (Griffiths und R. S. Ladell, C. r. **117**. 744. 1893.)

n) Carcinoma uteri. $C_8H_5NO_2$, weisse mikroskopische Nadeln, löslich in Wasser, alkalisch. Gibt ein Chlorhydrat, Chloroplatinat, Chloraurat. Pwfs. gelben N., Pbds. bräunlich, $AgNO_3$ rot, $HgCl_2$ grau, Nesslersches R. bräunlich. Verursacht Fieber und in 3 Stunden den Tod. (C. r. **118**. 1350. 1894.)

Digitized by Google

o) Pleuritis. $C_5H_5N_2O_2$ (?), aus Chloroform farblose, zweiaxige, rechtwinklige Tafeln, scheidet sich aus heissem Wasser in federförmigen Aggregaten von schwachem hagedornartigen Geruch aus, wird durch Salzsäure bei langem Stehen als weisses krystallinisches Chlorhydrat gefällt, gibt mit Nesslerschem R. hellgelben N., der bei längerem Stehen bräunlich wird, während sich die Lösung fleischrot färbt; in der Wärme löst sich der N. farblos. Ferrocyankalium in der Kälte keinen N., nach dem Erwärmen weisser oder hellgelber N., der bei längerem Stehen grünlich wird. Eisenchlorid weisser N., K_2CdJ_4 roter N., K_3BiJ_6 grüner, Phosphorantimonsäure bläulicher, Pwfs. krystalllinischer weisser N. Giftig. (Chem. News **70**. 109; Chem. Centralbl. 1894. **2**. 1090.)

p) Angina pectoris. $C_{10}H_8NO_4$, weiss, krystallinisch, löslich in Wasser, schwach alkalisch. Chlorhydrat, Chlorplatinat, Chloraurat krystallinisch. Pwfs. gelblicher N., Pbds. gelb, T. rot. $AgNO_3$ grünlich, $HgCl_2$ grünlich, Nesslers R. braun. Fieber und Tod in 2 Stunden. (Griffiths und C. Massey, C. r. **120**. 1128. 1895.)

8. Chiaruttini[1]) hat in 12 Fällen von Epilepsie, Hysterie, Chorea und ähnlichen Nervenkrankheiten den Harn nach Zusatz von Weinsäure eingedampft, darauf mit Ammoniak oder Natriumcarbonat alkalisch gemacht und mit Äther extrahiert. Er gibt an, in allen Fällen Alkaloide gefunden zu haben, welche bei Tieren oft ähnliche Zustände hervorriefen, wie bei den Kranken, von denen der Harn stammte. Grössere Dosen töteten unter Krämpfen.

9. Boinet und Silberet[2]) haben bei Morbus Basedowii drei Ptomaine gewonnen, welche bei Tieren ähnliche Erscheinungen verursachten, wie sie bei den Kranken selbst bisweilen gefunden werden.

10. Nencki hat die Angaben von Griffiths über das Vorkommen von Ptomainen in pathologischen Harnen für Typhus und Rotz nicht bestätigen können. Auch hat Kressling auf Veranlassung von Nencki 10 Liter Bouillonkultur von Rotz nach der Vorschrift von Griffiths verarbeitet, ohne dass es ihm gelang, eine wägbare Menge Ptomain aufzufinden. Ebensowenig konnte Nicola[3]) das Vorkommen von Glykocyamidin oder einer anderen charakteristischen Base im Harn von Masernkranken bestätigen.

11. Die Untersuchungen von Albu[4]) bringen dagegen wieder eine teilweise Bestätigung der Angaben von Griffiths.

Albu hat den Harn untersucht teils nach dem ursprünglichen Verfahren von Stas und Otto, teils nach dem kürzeren von Griffiths. Er fand Alkaloide bei Scharlach, Masern, Pneumonie, Diphtherie, Phthisis mit hektischem Fieber, Sepsis bei Uteruskarzinom, Erysipel, Morbus Basedowii, Tetanie, perniziöser Anämie, Autointoxikation mit Urticaria nach akutem Magenkatarrh, Coma diabeticum, wenn auch nicht in allen Fällen, wo mehrere zur Untersuchung kamen. Keine oder wenigstens keine krystallinische Substanz wurde gefunden bei Gesunden, Typhus abdominalis, puerperaler Sepsis, akutem Gelenkrheumatismus, Urämie, Cholera, Eklampsie, Magenkarzinom, Crises gastriques bei Tabes, Morbus Addisonii, Erythema nodosum. Auch aus dem Harn eines Hundes, der wochen-

[1]) E. Chiaruttini, La Riforma med. 133—135. 1893; Jahresber. f. Tierchem. **23**. S. 548.

[2]) Boinet und Silberet, Revue de méd. 1892; Jahresber. f. Tierchem. **22**. S. 495.

[3]) M. Nencki, Jahresber. f. Tierchem. 1893. S. 601. — F. Nicola, Giornale Farm. Chim. **51**. 241. 1902, zit. nach Jahresb. f. Tierch., **32**. 792.

[4]) A. Albu, Berliner klin. Wochenschr. **31**. 8. u. 1081. 1894.

Digitized by Google

lang auf Fleischkost gesetzt worden war, konnte kein Alkaloid gewonnen werden. Es bleibt dahingestellt, ob der Misserfolg etwa dadurch zustande kam, dass zu wenig Harn verarbeitet wurde.

In den positiven Fällen war das erhaltene Produkt meist sogleich rein oder durch Umkrystallisieren leicht rein zu erhalten. Die Ausbeute war immer gering und reichte niemals für eine Elementaranalyse aus. Die physikalischen und chemischen Eigenschaften waren im allgemeinen die von Griffiths angegebenen, aber bei Scharlach und Masern stimmten sie nicht immer mit dem Befund von Griffiths, und die einzelnen von Albu bei derselben Krankheit (Masern, Scharlach und Pneumonie) dargestellten Substanzen waren untereinander verschieden.

In mehreren Fällen konnten die Alkaloide in der Form von Chloroplatinaten und Chlorauraten gewonnen werden; meist brachten aber Goldchlorid, Platinchlorid, sowie auch Pikrinsäure nur wolkige Trübungen hervor, keine krystallinischen Niederschläge. Am konstantesten traten Niederschläge mit Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdänsäure auf, nächst diesen am häufigsten der mit Jodquecksilberkalium. Oft gelang auch die Probe mit Eisenchlorid und Ferricyankalium (Bildung von Berlinerblau).

Albu teilt folgende Einzelbefunde mit.

a) Scharlach. Aus 4,25 Liter Harn (von zwei Fällen) 15,4 mg Substanz, nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol Büschel langer spitzer Nadeln, alkalisch, leicht löslich in Wasser, schwer in Äther. Schmelzpunkt 133 °. Phosphorwolframsäure gab einen reichlichen, flockigen, Phosphormolybdänsäure einen spärlichen Niederschlag, beide in der Wärme löslich, beim Erkalten wieder auftretend. Tannin, K_2HgJ_4 und K_3BiJ_6 gaben reichliche Niederschläge, Pikrinsäure Trübung, Goldchlorid nur einen sehr feinen, wolkigen Niederschlag. 6 mg töteten eine weisse Maus in 3 Stunden unter heftiger Atemnot und Krämpfen,

b) Schwere Diphtherie. Aus 3,5 Liter Harn (drei Fälle) 29 mg Substanz. Weisse, rechtwinkelige Tafeln, stark alkalisch, geruchlos, luftbeständig, leicht löslich in Wasser, wenig in Äther. Schmelzpunkt 121—122 °. Phosphorwolframsäure gab einen weissen, im Überschuss löslichen Niederschlag, Phosphormolybdänsäure einen gelben, Tannin einen dicken, graubraunen, „Wismuth-Quecksilberjodid“ einen dichten, rubinroten Niederschlag. Die übrigen Alkaloidreagentien riefen weder Niederschlag noch Trübung hervor. 10 mg, in Wasser subkutan, töteten eine weisse Maus augenblicklich.

c) Pneumonie. Aus 8 Liter Harn (1 Fall) 36 mg, weisse viereckige Tafeln, stark alkalisch, leicht löslich in Wasser, Äther, Alkohol, luft- und lichtbeständig, geruchlos. Die Substanz sintert bei 126 °. Phosphorwolframsäure weissgrauer amorpher Niederschlag, Phosphormolybdänsäure dicker, gelber, wolkiger Niederschlag, Tannin leichter, wolkiger, grauer Niederschlag, „Wismutquecksilberjodid“ dicker, amorpher, rotbrauner Niederschlag, Platinchlorid reicher, wolkiger Niederschlag. 10 mg töten eine weisse Maus, 20 mg machen bei einem Kaninchen keine Erscheinungen.

d) Schweres Gesichtserysipel. 6,5 Liter Harn, 24,7 mg rötlich weisse, krystallinische, durch eine geringe amorphe Beimengung verunreinigte Substanz, alkalisch. Phosphormolybdänsäure, Tannin, „Wismutquecksilberjodid“ geben amorphe, flockige Niederschläge, Platinchlorid Trübung, Goldchlorid nichts. Tierversuch negativ.

In einigen Fällen fand zur Aufsuchung von Alkaloiden im Harn das Verfahren von Brieger, und zwar mit Erfolg, Anwendung.

12. Marino Zuco und Dutto[1]) suchten nach folgender Methode im Harn eines an Morbus Addisonii Leidenden Neurin nachzuweisen,

[1]) F. Marino Zuco und U. Dutto, Moleschotts Untersuchungen zur Naturlehre. 14. 617. 1894.

Digitized by Google

dem sie auf Grund theoretischer Erwägung eine besondere Rolle in der Pathologie dieser Krankheit zuschrieben:

Der Harn von 12 Tagen wurde auf 1 Liter eingedampft und mit überschüssigem Barythydrat gekocht, bis der Ammoniakgeruch verschwunden und fast aller Harnstoff zersetzt war. Die alkalische Flüssigkeit wurde filtriert, mit Kohlensäure gesättigt und dann mit Bleiessig ausgefällt. Im Filtrat vom Bleiniederschlag wurde das Blei durch Schwefelwasserstoff ausgefällt; das Filtrat vom Schwefelblei wurde auf dem Wasserbad unter tropfenweisem Zusatz von Schwefelsäure eingedampft. Nach Verjagen der Essigsäure wurde der Sirup mit Wasser verdünnt, erst aus saurer, dann aus alkalischer Lösung mit Chloroform ausgeschüttelt. Das Chloroformextrakt aus alkalischer Lösung wurde mit Schwefelsäure schwach angesäuert, mit Tierkohle aufgekocht, filtriert und mit Jodwismuth-Kalium gefällt. Der flockige, orangegelbe Niederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Die Jodhydrate wurden mit Silberoxyd zerlegt und filtriert. Die schwach alkalische Flüssigkeit wurde mit Salzsäure angesäuert, von etwas Chlorsilber abfiltriert und erst auf dem Wasserbad, dann im Vacuum eingetrocknet. Der Rückstand wurde mit einem Teil absoluten Alkohols und zwei Teilen Äther behandelt. Vom Ungelösten wurde abfiltriert, das Filtrat hinterliess einen sirupösen Rückstand, dessen wässerige Lösung mit Jodwismuth-Kalium einen orangegelben, mit Jodquecksilber-Kalium einen weissen, flockigen Niederschlag, mit Goldchlorid eine krystallinische Fällung gab. Mit Quecksilberchlorid und mit Pikrinsäure trat kein Niederschlag auf. Das Goldsalz, das zunächst flockig ausfiel, wurde wiederholt mit Schwefelwasserstoff zerlegt und wieder gefällt. Schliesslich wurden geringe Mengen eines in kleinen, glänzenden Krystallnadeln krystallisierenden Goldsalzes erhalten, von dem 43,5 mg zur Goldbestimmung verwandt wurden. Der Goldwert stimmte auf die Formel $C_5H_{14}NO.AuCl_4$, also auf das Goldsalz des Cholins, nicht des Neurins, worauf schon Kutscher und Lohmann [1]) hinwiesen. Beim Veraschen des Salzes trat Geruch nach Trimethylamin auf. — Ob das Cholin, falls es wirklich vorlag, bei der eingreifenden Behandlung des Harns nicht erst sekundär entstanden ist, lässt sich nicht entscheiden.

13. Albu, sowie Ewald und Jacobson [2]) untersuchten einen und denselben Fall von Tetanie. Albu stellte aus Harn, der während der Anfälle entleert wurde, über 0,5 g einer weissen Substanz dar, welche fast sämtliche Alkaloidreaktionen gab, auch schöne Gold- und Platinsalze, aber, da sie nicht rein war, nur 0,164 g reines Chloroplatinat. Die von Ewald und Jacobson gewonnene Substanz lieferte ein in langen Nadeln krystallisierendes Pikrat, war aber nicht giftig.

14. Ewald und Jacobson haben nach demselben Verfahren weiter untersucht den Harn in drei Fällen von Magenkarzinom (zweimal mit Erfolg), 1 Fall von urämischem Coma und 1 Fall von Morbus Addisonii mit Erfolg. Ein negatives Resultat ergab sich in je 1 Fall von Bauchfelltuberkulose, traumatischer Neurose und multipler Neuritis. Es wurden von den Alkaloiden die Pikrate in grossen Nadeln erhalten, in 2 Fällen auch Platinsalze (kein Salmiak!). Die Ausbeute war gering. Der Morbus Addisonii ergab über 1 g Pikrat. Bei der Analyse desselben wurde gefunden: 32,59 % C, 2,78 H, 13,28 N, 51,35 O, woraus Ewald und Jacobson für die Basis die Formel $C_5H_7NO_6$ ableiten. Für das Pikrat $C_5H_7NO_6.C_6H_2(NO_2)_3.OH$ berechnen sich 32,41 % C, 2,46 H, 13,90 N, 51,23 O.

15. Kijanitzin [3]) hat aus dem Harn von Kaninchen und Hunden, denen die Haut in grösserer Ausdehnung verbrannt worden war, nach dem Verfahren von Brieger eine Substanz mit ähnlichen chemischen Eigenschaften und von derselben Giftwirkung wie das Peptotoxin dargestellt.

[1]) Kutscher und Lohmann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 48. 6. 1906.

[2]) Albu, a. a. O. 1082. — C. A. Ewald und J. Jacobson, Berliner klin. Wochenschr. 31. 25. 1894.

[3]) F. Kijanitzin, Virchows Arch. 131. 443. 1893.

Digitized by Google

Die Substanz war amorph, gelblich oder gelbbraun, roch sehr scharf und unangenehm, löste sich leicht in Wasser und in Spiritus, schwer in Benzin und in Chloroform, nicht in Äther. Jodjodkalium und Jodjodwasserstoff gaben sehr reichliche, rotbraune Niederschläge, Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure und Meyers Reagens reichliche, weisse Niederschläge, Millons Reagens einen weissen, an der Luft rot werdenden Niederschlag, Kaliumwismuthjodid einen unbedeutenden, orangefarbenen Niederschlag, Tannin einen kaffeebraunen, Sublimat einen weissen, Platin- und Goldchlorid unbedeutende, gelbliche Niederschläge, Ferricyankalium und Eisenchlorid Berlinerblau.

Reiss[1]) erhielt aus dem Phosphorwolframsäure-Niederschlag des Menschenharns nach schweren Verbrennungen Lösungen, die, in geringer Menge subkutan injiziert, Mäuse in einen soporösen Zustand versetzten und in einigen Minuten töteten. Nach dem Geruch und dem Schmelzpunkt des nicht weiter gereinigten Platinsalzes hielt er die giftige Substanz für Pyridin oder eine Pyridinbase.

H. Pfeiffer[2]) bestätigte die schon von anderen beobachtete hohe Giftigkeit des Harns von Tieren und Menschen nach ausgedehnten Verbrühungen. Als Symptome der Giftwirkung bei Mäusen führt Pfeiffer an: Apathie und Schwäche, Polyurie, Methämoglobinurie, tonisch-klonische Krämpfe bei Berührung, Cheyne-Stokessche Atmung, Tod nach stundenlanger Agone. Bei Meerschweinchen und Kaninchen wirkt das Harngift auch nekrotisierend an der Injektionsstelle und auf die Schleimhäute des Intestinaltraktus.

Das Harngift ist leicht löslich in Wasser, Alkohol und Glycerin, unlöslich in Chloroform, Äther und Petroläther. Es fällt vollständig mit Quecksilberchlorid aus saurer Lösung, verändert sich aber bei Zersetzung des Quecksilber-Niederschlags mit Schwefelwasserstoff. Es ist fällbar durch Phosphorwolframsäure, teilweise aussalzbar durch Ammonsulfat. Gegen Licht und Wärme ist es sehr empfindlich. Die nekrotisierende Komponente ist empfindlicher als die neurotische. Vielleicht handelt es sich nur um vermehrte Ausscheidung normaler Harngifte (Pfeiffer)[3]).

16. Nach dem Briegerschen Verfahren arbeitete auch Dresbach[4]) mit kleinen Modifikationen: 4 Liter normaler Urin wurden mit Bleizucker ausgefällt, das Filtrat zum Sirup eingeengt und der Sirup mit 96 %igem Alkohol extrahiert. Das filtrierte Extrakt wurde mit einer alkoholischen Lösung von Bleizucker gefällt. Das Filtrat von der Fällung wurde wieder konzentriert und mit 96 %igem Alkohol extrahiert, das alkoholische Extrakt abermals konzentriert, mit Wasser aufgenommen und aus der wässerigen Lösung das Blei mit Schwefelwasserstoff entfernt. Das Filtrat vom Schwefelblei wurde mit Salzsäure angesäuert, zum Sirup eingeengt und mit Alkohol extrahiert. Die alkoholische Lösung wurde mit gesättigter alkoholischer Sublimatlösung ausgefällt, die Quecksilbersalze in die Chlorhydrate verwandelt, in Alkohol gelöst und die Lösung zur Injektion eingedampft und mit Wasser aufgenommen. Die Lösungen, die fast frei von anorganischer Substanz waren, auch keine Xanthinkörper enthielten, waren verschieden giftig. Meist traten Krämpfe auf nach Injektion unter die Haut bei Mäusen. Die Respiration war unregelmässig und angestrengt. In einem Fall war die Wirkung auf die Atmung der einzige Effekt. Die kleinen Arterien der Extremitäten waren öfters erweitert. Beobachtungen über Puls und Herz wurden nicht angestellt.

17. Über die Erfolge, welche die Behandlung des Harns mit Benzoylchlorid und Natronlauge hat, liegen Angaben von Kerry und Kobler[5]) vor.

[1]) Reiss, Arch. f. Dermatol. u. Syphilis 25. Erg.-Heft 141. 1893.
[2]) H. Pfeiffer, Virchows Archiv 180. 367. 1905.
[3]) H. Pfeiffer, Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskr. 54. 482. 1908.
[4]) M. Dresbach, Journ. of exper. med. 5. 315. 1900; dort Lit.
[5]) R. Kerry und G. Kobler, Wiener klin. Wochenschr. 1891. S. 525.

Digitized by Google

Sie untersuchten Harn bei Typhus, Diphtherie, Pyämie, Tuberkulose und Pneumonie. Wurde die klare Lösung des gewaschenen Niederschlags in Alkohol mit Wasser stark verdünnt, so entstand in allen Fällen, besonders aber zur Zeit des Fieberabfalls, eine zumeist sehr dichte, gelbe bis rotgelbe Trübung, aus der sich häufig ein krystallinischer Niederschlag absetzte. Harn von Gesunden oder von Kranken, die an einer anderen als einer Infektionskrankheit leiden, oder Harn von Infektionskranken nach der Entfieberung zeigt dagegen nur eine leichte Trübung, gewöhnlich nur eine geringe Opalescenz. Ein aus der Benzoylverbindung abgespaltener basischer Körper gab Alkaloidreaktionen; die Benzoylverbindung enthielt Stickstoff, war aber nach dem Schmelzpunkt kein Benzamid. Die Menge des basischen Körpers (aus ungefähr 1 Liter Harn) war sehr gering. Er rief schon in kleinen Mengen Vergiftungserscheinungen hervor, beim Frosch in kurzer Zeit den Tod.

Über die Isolierung der Diamine mit Benzoylchlorid und Natronlauge, sowie über das Auftreten von Tribenzamid bei dieser Reaktion s. S. 691.

18. Gardeur[1]) untersuchte mit seiner unter C. 4. beschriebenen Methode namentlich Harn von Geisteskranken (aufgeregten Melancholikern).

Er fand bei Patient I eine flüchtige Base von Weissdorngeruch, bei II ein aus Äther und aus Chloroform in feinen mikroskopischen Nadeln krystallisierendes Alkaloid (3 mg aus 2 Liter), bei III und IV ölige Alkaloide (12—15 mg aus 1,8 bezw. 10 Liter), bei V ein flüssiges Alkaloid von cicutinartigem Geruch, bei VI minimale Quantitäten eines krystallinischen Alkaloids, das noch einer besonderen Reinigung durch Meyers Reagens (wässerige Lösung von 13,546 g $HgCl_2$ und 49,8 g KJ in 1 Liter) bedurfte, bei VII Cadaverin. — Aus Urinen von normalen Personen wurden nur geringe Mengen einer öligen Substanz von Weissdorngeruch isoliert.

19. Das „Urohypertensin" von Abelous und Bardier[2]): 1 Liter Urin wird mit festem Sublimat gesättigt; nach einigen Stunden wird filtriert und das Filtrat mit Schwefelwasserstoff von Quecksilber befreit. Das Filtrat vom Schwefelquecksilber wird auf etwa 10 ccm auf dem kochenden Wasserbad eingeengt und die stark gefärbte, saure konzentrierte Flüssigkeit mit 300 ccm absolutem Alkohol versetzt. Man filtriert und verjagt im Filtrat den Alkohol auf dem siedenden Wasserbad, macht den Rückstand zunächst mit gepulvertem Natriumcarbonat, zum Schluss mit Natronlauge alkalisch und zieht erschöpfend mit Äther aus, der etwas Farbstoff mit aufnimmt. Die ätherische Lösung wird abgegossen und vorsichtig mit einer gesättigten, ätherischen Oxalsäurelösung versetzt, bis keine Fällung oder Trübung mehr entsteht. Man filtriert, trocknet den Rückstand (A) bei niedriger Temperatur über Schwefelsäure und lässt im Filtrat spontan den Äther verdunsten (Rückstand B). Die Ausbeute an A beträgt etwa 1 mg aus 1 Liter Harn.

[1]) A. Gardeur, Travaux de laboratoire de l'Inst. Solvay. Brüssel. II. H. 1. 1898; Jahresber. f. Tierchem. 28. 706.

[2]) J. E. Abelous et E. Bardier, Journ. de physiol. et de pathol. gén. **10.** 627. 1908 und **11.** 34. 1909.

Digitized by Google

Der Rückstand A hat bei intravenöser Injektion eine stark pressorische Wirkung und wird als Urohypertensin bezeichnet. Er wirkt ausserdem fördernd auf die Sekretion der Speichel- und Nasendrüsen und ruft eine vorübergehende Narkose hervor. Die einheitliche Natur ist nicht sichergestellt. — Der Rückstand B wirkt ausgesprochen depressorisch. — Die pressorische Wirkung scheint dem normalen, nicht aber jedem menschlichen Urin zuzukommen. Sie fehlte im Urin von arteriosklerotischen Patienten, ebenso im Urin vom Hund, Kaninchen, Schwein, Rind und Pferd. Die Urine dieser Tiere wirken vielmehr depressorisch. Im menschlichen Urin ist die pressorische Wirkung von der Diät abhängig, sie ist am stärksten nach Fleischnahrung, gering im Harn von Kindern (Abelous und Bardier[1])).

Nach Ansicht der Entdecker[2]) ist das Urohypertensin vielleicht mit einer von Abelous und Ribaut aus faulem Fleisch isolierten Base von der wahrscheinlichen Zusammensetzung $C_6H_{11}NO$ verwandt, da beide Substanzen sich chemisch und in ihrer Gefässwirkung ähnlich verhalten.

Das Urohypertensin ist nicht dialysabel, wird nicht von Tierkohle zurückgehalten und ist weder durch Sublimat noch durch Bleiacetat fällbar. Die genauere Analyse der physiologischen Wirkung zeigt, dass die Substanz eine starke Erregung des Respirationscentrums und gleichzeitig eine Hemmung des Vaguscentrums für die Herztätigkeit bewirkt. Die Hauptwirkung aber besteht in einer Reizung der peripheren Ganglien und der glatten Muskelfasern aller Gefässe. Wirksam ist die aus 100 bis 10 ccm Urin erhältliche Menge Substanz; wiederholte und grosse Dosen führten nicht den Tod herbei. — Durch Oxydation mit Natriumchlorat und schon durch mehrstündiges Erwärmen im Brutschrank wird das Urohypertensin giftiger. Die Giftwirkung wird durch eine vorhergehende Injektion von Natriumthiosulfat aufgehoben (Abelous u. Bardier[3])).

C. Darstellung und Nachweis. Ausser den unter B. angeführten einzelnen Darstellungsmethoden für physiologisch wirksame Substanzen sind folgende allgemein für normale und pathologische Urine verwendbare Methoden anzuführen.

1. Verfahren von Luff und von Griffiths[4]). Dasselbe ist das Verfahren von Stas und Otto zur Ausmittelung der Alkaloide in vereinfachter Form. Luff hat es angegeben und Griffiths befolgt.

---

[1]) Abelous et Bardier, Compt. rend. Soc. Biol. 65. 63 u. 560. 1908.
[2]) Abelous et Bardier, Compt. rend. Soc. Biol. 64. 906. 1908.
[3]) J. E. Abelous et E. Bardier, Compt. rend Soc. Biol. 71. 62. u. 174. 1911.
[4]) Luff, a. a. O. — A. B. Griffiths, Comptes rendus 113. 656. 1891.

Digitized by Google

Eine grosse Menge Harn wird mit kohlensaurem Natron alkalisch gemacht und mit dem halben Volumen Äther ausgeschüttelt; nachdem sich der Harn abgesetzt hat, wird der Äther filtriert und das Filtrat mit einer Lösung von Weinsäure geschüttelt, welche das Alkaloid aufnimmt. Nach dem Verdampfen des Äthers aus der wässerigen Lösung wird diese mit Natriumcarbonat übersättigt, wieder mit dem halben Volumen Äther geschüttelt, der von der übrigen Flüssigkeit getrennte Äther der freiwilligen Verdunstung überlassen und der Rückstand über Schwefelsäure getrocknet. Man erhält nach Albu die Basen entweder sogleich oder durch Umkrystallisieren aus Alkohol rein.

Aussicht auf Erfolg hat man nach Albu nur dann, wenn der erste Harn nach dem Einsetzen der Krankheit verwendet wird. Nach Albu sind mindestens 8—10 Liter Harn in Arbeit zu nehmen, um einigermassen ansehnliche Mengen Substanz zu erhalten. In einigen Fällen hat Albu den Harn vor der Behandlung mit Äther auf etwa $^1/_8$ eingedampft und dasselbe Resultat erhalten wie mit dem nativen Harn. Mehrfache Extraktion des Harns mit Äther ist überflüssig. Chiarutti hat den Harn nach dem Vorgang von Spica nach Zusatz von Weinsäure eingedampft, dann mit Ammoniak oder Natriumcarbonat alkalisch gemacht und mit Äther behandelt.

Bei der Darstellung der schwer löslichen Substanz bei Pleuritis (B. 7. o.) hat Griffiths den Verdunstungsrückstand des zweiten ätherischen Auszugs auf dem Wasserbad mit Ätzkalk eingedampft und den Rückstand mit Chloroform ausgezogen. Der zur Extraktion verwendete Äther muss absolut rein sein, er darf bei spontaner Verdunstung einer grösseren Menge (0.5 Liter) keinen Rückstand hinterlassen, welcher Alkaloidreaktionen gibt. Vaughan und Novy[1]) fanden so in Äther Pyridin.

2. Verfahren nach Brieger[2]). Der Harn (10—20 Liter) wird nach Zusatz von Salzsäure zum Sirup eingedampft, der Rückstand mit Alkohol ausgezogen und die Lösung mit alkoholischer Quecksilberchloridlösung gefällt. Der Niederschlag wird mit viel Wasser ausgekocht, wobei Eiweiss und Pepton ungelöst bleiben, die Quecksilberverbindungen der Ptomaine aber in Lösung gehen. Sind schwer lösliche solche Verbindungen zugegen, so können sie beim Erkalten auskrystallisieren. Durch Behandeln der Flüssigkeit mit Schwefelwasserstoff und Eindampfen des Filtrats erhält man die Basen als Chlorhydrate.

3. Als Benzoylverbindungen erhält man die Ptomaine nach dem Verfahren, welches von Udránszky und Baumann zur Darstellung der Diamine verwendeten (s. S. 691).

Die isolierten Ptomaine sind dann durch die Alkaloidreaktionen, die Beschaffenheit der Base selbst und ihrer Salze, ihr physiologisches Verhalten und womöglich durch die Analyse näher zu charakterisieren.

[1]) V. C. Vaughan und F. G. Novy, Ptomaines, Leucomaines etc. 3. ed. Philadelphia and New York 1896. S. 264.

[2]) L. Brieger, Weitere Untersuchungen über Ptomaine. Berlin 1885. S. 52. — Ewald und Jacobson, a. a. O.

Digitized by Google

4. Gardeur (s. B. b) 18.) verwandte zur Prüfung auf physiologische Gifte im Harn folgendes Darstellungsverfahren: Der Urin wird mit Weinsäure angesäuert und im Vacuum bei 45—50° bis zur Sirupkonsistenz eingeengt, der Rückstand mit konzentrierter Sodalösung versetzt und mit starkem Alkohol extrahiert, wobei das Residuum A ungelöst bleibt. Die filtrierte alkoholische Lösung wird mit 2 Volumen Äther vermischt und das Gemisch vom entstandenen Niederschlag dekantiert; man wäscht mit Äther nach, vereinigt den zum Waschen benutzten Äther mit der ätherisch-alkoholischen Lösung und dampft nach Zusatz einiger Tropfen Essigsäure bei mässiger Wärme ein. Der erhaltene Rückstand B wird mit kleinen Mengen gesättigter Sodalösung versetzt und sukzessive mit Äther, Chloroform und Benzol erschöpft. Die erhaltenen Extrakte werden nach Zusatz eines Tropfen mit Salzsäure gesättigten Alkohols der Verdunstung überlassen. — Ist ein in Äther unlösliches Alkaloid zugegen, so löst man die Extraktivstoffe in Wasser, vereinigt die Lösung mit der von A, säuert mit Salzsäure an, fällt mit Phosphormolybdänsäure im Überschuss und macht nach bekannten Methoden aus dem Niederschlag die Basen frei.

5. Nach Guillemard und Vranceano[1]) werden die Alkaloide wie folgt isoliert: Man konzentriert 3 Liter Urin, in dem man den Gesamtstickstoff bestimmt hat, im Vacuum so weit, dass 1 Liter 20 g Stickstoff enthält. Man fügt 5 % Salzsäure zu, filtriert und fällt das Filtrat vollständig mit 5 % iger Kieselwolframsäure-Lösung aus. Man saugt den Niederschlag ab, wäscht ihn mit destilliertem Wasser aus zur Entfernung überschüssiger Salzsäure und löst ihn kalt in möglichst wenig schwach ammoniakalischem Wasser. Die stark gefärbte Lösung, die kieselwolframsaures Ammoniak und die freien Basen enthält, wird im Vacuum zur Trockne verdampft, und nach Zusatz einiger Tropfen Ammoniak mit absolutem Alkohol im Überschuss versetzt. Dabei bleibt das kieselwolframsaure Ammoniak zurück, der grösste Teil der Basen geht in Lösung. Der Rückstand wird mit Alkohol von 96% erschöpft und die vereinigten alkoholischen Flüssigkeiten werden im Vacuum zur Trockne verdampft. — Nimmt man diesen Rückstand mit physiologischer Kochsalzlösung auf und verdünnt, bis $\Delta = -0{,}56^{0}$ ist, so kann man durch intravenöse Injektion die Giftigkeit der Harnalkaloide messen und mit der Gesamttoxicität vergleichen (s. S. 726).

Nach der beschriebenen Methode fällt das Kreatinin fast quantititiv mit aus. Will man die Alkaloide frei von Kreatinin gewinnen, so fällt man den nicht konzentrierten Harn mit Kieselwolframsäure und extrahiert die Fällung mit wenig Alkohol ohne Ammoniakzusatz. Für die toxische Wirkung kommt das Kreatinin nicht in Betracht.

[1]) H. Guillemard et P. Vranceano, Compt. rend. Soc. Biol. 57. 933. 1905.

Schwefelhaltige Verbindungen der aliphatischen Reihe.

Von A. Ellinger-Königsberg i. Pr.

I. Rhodanwasserstoff.

CNSH.

A. Vorkommen. Rhodansalze sind nach Gscheidlen ein Bestandteil des normalen Harns des Menschen und der Tiere (Hund, Katze, Pferd, Rind, Kaninchen); Külz, I. Munk, sowie Bruylants[1]) haben die Angaben Gscheidlens bestätigt. Im Liter Menschenharn sind nach Gscheidlen etwa 0,035 g, nach Munk 0,11 g, nach Bruylants nur 0,003 g Sulfocyankalium enthalten, im günstigsten Fall macht der Schwefel des Sulfocyanwasserstoffs ungefähr nur $^1/_3$ des „neutralen Schwefels" aus.

Bruylants fand im Liter Menschenharn Spuren bis 8,2 mg Sulfocyankalium, im Pferdeharn 4,4—7,1, im Rinderharn im Mittel 5,4 mg (2,5—10,5). Alle quantitativen Bestimmungen dürften infolge des umständlichen Verfahrens zu niedere Werte ergeben haben. Das Rhodan kommt nach Bruylants nur im Harn von Tieren vor, welche den Stickstoff in Form von Harnstoff ausscheiden, es fehlt bei Vögeln und Reptilien; in 1 kg Schlangenexkrementen traf Bruylants keine Spur davon an. Die Ausscheidung ist unabhängig von der Art der Ernährung. Der Gehalt des Harns an Rhodan ist je nach der Person verschieden, aber die einzelnen Personen weisen trotz verschiedener Ernährung sehr konstante Werte auf. Bei Individuen mit Harngries sinkt der Gehalt des Harns an Rhodan auf $^1/_{20}$ der normalen Menge, und der Harn von Gichtkranken weist während des Anfalls keine Spur auf. — Nach der Inhalation von Schwefelkohlenstoff, welcher bekanntlich in alkoholischer Lösung mit Ammoniak Rhodanammon gibt, stieg der Gehalt des Harns an Rhodankalium auf etwa das Doppelte.

Nach Mayer, der mit der titrimetrischen Rhodanbestimmungsmethode von Rupp arbeitete, schwanken die Rhodanmengen im Harn (in CNS-Ionen ausgedrückt) zwischen 23,5 mg und 78 mg bei Männern, 30—39 mg bei Frauen und Kindern, deren Stoffwechsel nicht gestört war. Ghedini fand als tägliche Rhodanmenge im Harn 9,4 mg bei Gesunden. Einen sicheren Einfluss des Rauchens auf die Rhodanausscheidung, der für die Rhodanmenge im Speichel von Krüger[2]) behauptet wird, hat Mayer nicht feststellen können. Bei ihm selbst stieg der Rhodangehalt nach dem Rauchen einiger schwerer Importzigarren von

[1]) Gscheidlen, Tageblatt der 47. Versammlung der Naturforscher und Ärzte in Breslau 1874. S. 98; 52. Jahresber. d. schles. Gesellsch. f. vaterl. Kultur f. 1874. S. 207. 1875; Pflügers Arch. 14. 401. 1877. — E. Külz, Sitzungsber. d. Gesellsch. z. Beförd. d. gesamten Naturw. in Marburg 1875. S. 76. — I. Munk, Deutsche med. Wochenschr. 1876; 46. Virchows Arch. 69. 354. — J. Bruylants. Bull. de l'Acad. de méd. de Belgique (4) 2. 18; Jahresber. f. Tierchem. 1888. S. 134.

[2]) A. Mayer, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 79. 209. 1904. — Ghedini, Rivista Critica di Clinica Medica 1911. Nr. 48. zit. nach G. Diena, Biochem. Zeitschr. 39. 12. 1912. — F. Krüger, Zeitschr. f. Biol. 37. 6. 1899.

Digitized by Google

31,5 auf 37,7 mg im Liter Harn, während sonst die Rhodanausscheidung bei dem gleichen Individuum an verschiedenen Tagen nur wenig schwankt. Bei reichlicher Diurese scheint mehr Rhodan ausgeschieden zu werden, ebenso nach intensiverer Körperbewegung, wenn diese nicht reichliche Schweissabsonderung zur Folge hat. Die Rhodanmenge im Harn ist am Morgen am kleinsten und erreicht ihr Maximum nach der Hauptmahlzeit, wohl weil dabei am meisten rhodanhaltiger Speichel verschluckt wird (Gscheidlen, Mayer).

Bei 24 von Mayer untersuchten Kranken schwankten die Tagesmengen zwischen 21 und 156 mg. Ausser der Diurese scheint auch Fieber die Rhodanausscheidung zu steigern. Doch hält Mayer selbst die Werte, die bei Fieberkranken gefunden wurden, nicht für sicher, weil möglicherweise der Albumosengehalt des Harns zu fehlerhaften, zu grossen Werten bei der Rhodanbestimmung im Harn führt. Die Analysen lassen deshalb auch keine sicheren Schlüsse zu, ob die Rhodanausscheidung im Harn und Speichel bei pathologischen Fällen parallel gehen, und ob das Speichelrhodan beim Menschen die einzige Quelle des Harnrhodans ist. Diese naheliegende Annahme ist jedenfalls bisher nicht widerlegt, auch nicht durch die Beobachtungen von Edinger und Clemens[1]), die in verschiedenen Organen von Leichen bestimmbare Mengen, in den Speicheldrüsen keine nachweisbaren Mengen Rhodan fanden. Schätzt man die Mengen Rhodan, die mit dem Speichel verschluckt werden, so ergeben sich Werte derselben Grössenanordnung, wie die im Harn gefundenen, worauf schon Gscheidlen hingewiesen hat. Ghedini fand vermehrte Rhodanausscheidung bei Leberleiden und Diabetes, verminderte nur bei Polysarkie.

Beim Hunde scheinen die Sekretionsverhältnisse und der Kreislauf des im Organismus gebildeten Rhodans andersartig zu sein. Gscheidlen fand im Hundespeichel Rhodan und sah es bei Ableitung des Speichels nach aussen durch Fisteln aus dem Harn verschwinden. Die meisten anderen Autoren haben im Hundespeichel kein Rhodan gefunden, Edinger und Treupel selbst dann nicht, wenn sie den Tieren Rhodan gegeben hatten. Dagegen ist beim Hunde der Magensaft rhodanhaltig, selbst wenn kein Speichel in den Magen gelangt (Nencki). Nach Verabreichung von Rhodaniden fand de Souza beim Hunde ausser im Harn auch in allen anderen Sekreten, dem Submaxillarspeichel, dem Pankreassaft, der Galle und dem Urin Rhodan, in diesen aber stets prozentisch weniger als im Blut. Diena[2])

[1]) A. Edinger und P. Clemens, Zeitschr. f. klin. Med. 59. 218. 1906; dort ausführliches Literaturverzeichnis.

[2]) D. H. de Souza, Journ. of physiol. 35. 332. 1907. — G. Diena, Biochem. Zeitschr. 39. 12. 1912.

Digitized by Google

konnte es in der Galle nach Fütterung mit Rhodalzidtabletten nicht sicher nachweisen, wohl aber im Duodenalinhalt von Fistelhunden.

Über die Entstehung des Rhodans im Tierkörper ist mit Sicherheit nur festgestellt, dass Blausäure, Cyanide und Nitrile in erheblicher Menge in Rhodanide übergehen (Lang, Heymans und Masoin, Reid Hunt) und dadurch entgiftet werden. Woher die betreffenden Cyanverbindungen stammen, ob aus Purinderivaten oder Eiweissspaltungsprodukten, bedarf noch der Aufklärung. Im Anschluss an die Beobachtung von Plimmer, dass Aminosäuren unter bestimmten Oxydationsbedingungen Blausäure liefern können, hat Willanen[1]) festgestellt, dass im Kaninchenharn die Rhodanreaktion auftritt oder zunimmt, wenn man den Tieren mehrere Gramm Glykokoll, Kreatinin, wahrscheinlich auch Adenin eingibt. Eine vermehrte Rhodanausscheidung bei Rauchern würde sich durch den Blausäuregehalt des Tabakrauchs ebenfalls leicht erklären.

Der Schwefel, der zum Übergang der Cyan- in die Rhodanverbindungen nötig ist, kann in vitro von Eiweisskörpern, die locker gebundenen Schwefel enthalten, geliefert werden (Pascheles). Künstlich lässt sich der Entgiftungsvorgang durch Verabreichung von Natriumthiosulfat befördern (Lang, Heymans und Masoin).

Über die Ausscheidung eingeführten Rhodans finden sich stark widersprechende Angaben in der Literatur. Bruylants fand nach Eingabe von 0,1 g Rhodanammon im Harn der nächsten 48 Stunden nur 13 % wieder, Lang beim Hunde nur ca. 16 % des eingegebenen Rhodans. Dagegen sah Pollak beim Hund, Kaninchen und Menschen das teils per os, teils subkutan zugeführte Rhodan im Laufe von 4—9 Tagen fast quantitativ im Harn wieder erscheinen. In Mayers Versuchen an Menschen wiederum betrug die Menge des ausgeschiedenen Rhodans niemals auch nur die Hälfte des eingegebenen, während nach Kabdebó[2]) bei Hunden von subkutan eingespritztem Rhodan 87 bis 88 % in 3—4 Tagen wieder entleert wurden. Zum Teil dürften sich diese Widersprüche durch die verschiedene Dauer des Harnaufsammelns erklären; vielleicht könnte auch ein Einfluss des Salzgehaltes der Nahrung wie bei der Ausscheidung der Bromide mit im Spiele sein.

B. Eigenschaften. 1. Die Sulfocyansäure bildet eine farblose, in Wasser, Alkohol und in Äther lösliche Flüssigkeit von scharfem, dem der Essigsäure ähnlichen Geruch. Die konzentrierte Säure zersetzt sich leicht zu Persulfocyansäure und Blausäure, $3\,CNSH = C_2N_2H_2S_3 + CNH$, die verdünnte (5 %ige) Säure ist viel beständiger.

[1]) K. Willanen, Biochem. Zeitschr. 1. 129. 1906.

[2]) L. Pollak, Hofmeisters Beitr. 2. 430. 1901. — G. Kabdebó, Magyar Orvosi Archivum 1907, zit. nach Jahresb. f. Tierchem. 37. 401.

Digitized by Google

2. Beim Erwärmen der wässerigen Lösung verflüchtigt sich ein Teil der Säure unzersetzt, während ein anderer Teil unter Wasseraufnahme zu Kohlensäure, Schwefelkohlenstoff und Ammoniak zerfällt:

$$2\,CNSH + 3\,H_2O = (NH_4)_2\,CO_3 + CS_2.$$

3. Die meisten Rhodansalze sind in Wasser und in Alkohol löslich, so die Salze der Alkalien und alkalischen Erden und mehrere Metallsalze. Bemerkenswert sind folgende Salze:

a) Das Eisenoxydsalz entsteht beim Versetzen eines Rhodansalzes mit einem Eisenoxydsalz. Es ist ausgezeichnet durch seine intensiv blutrote Farbe, die sich dadurch von der ähnlichen Färbung anderer Eisenoxydsalze (des essigsauren und ameisensauren) unterscheidet, dass sie auf Zusatz von Salzsäure nicht verschwindet; auch geben die Lösungen des Rhodaneisens beim Kochen nicht, wie das essigsaure und ameisensaure Eisenoxyd, einen Niederschlag von basischem Salz. Die Färbung beruht nach Krüss und Moraht[1]) auf der Bildung eines Doppelsalzes $Fe\,(CNS)_3$, 9 KCNS, und die Färbung der Lösung ist dann am stärksten, wenn in der Salzmischung auf 1 At (Ferri-) Eisen wenigstens 12 Mol. Rhodanid enthalten sind. Dieses Doppelsalz wird zersetzt und dementsprechend die Rotfärbung vermindert durch Wasser, Neutralsalz (Salmiak, Kochsalz), Salzsäure Es ist ferner bekannt, dass gewisse organische Säuren (Weinsäure, Milchsäure u. a.) die Färbung zum Verschwinden bringen, dass sie aber auf Zusatz von viel Salzsäure meist wieder hervorgerufen werden kann. Dieses Verhalten ist für die colorimetrische oder spectrophotometrische Bestimmung des Rhodans von grösster Bedeutung. Das Ferrirhodanid löst sich ausser in Wasser auch leicht in Alkohol und in Äther und kann der wässerigen Lösung durch Schütteln mit Äther fast vollständig entzogen werden.

Nach Tarugi[2]) beruht die Rotfärbug der Rhodannate mit Eisenchlorid auf der Bildung einer Peroxysulfocyansäure, die nach der reversibeln Gleichung:

$$12\,FeCl_3 + 6\,H_2O + 6\,KCNS \rightleftarrows$$
$$2\,FeHC_3N_3O_3S_3 + 6\,KCl + 10\,FeCl_2 + 10\,HCl$$

in Form ihres Eisensalzes entsteht. Die freie Säure selbst, $H_4C_3N_3S_3O_3$, wie ihre sauren Salze sind rot gefärbt. Lösungen von Oxalaten, Tartraten etc. verwandeln die Persäure unter Entfärbung in die entsprechenden neutralen Salze, die durch Mineralsäuren unter Bildung der freien Säure und Rotfärbung wieder zersetzt werden.

b) Eine verdünnte Rhodanidlösung färbt sich selbst noch bei einer Verdünnung von 1 : 4000 mit einem Kupferoxydsalz smaragdgrün (gelblich grün) (Colasanti)[3]) und setzt allmählich einen weissen Niederschlag ab; eine konzentrierte Rhodanidlösung färbt sich mit wenig Kupferoxydsalz dunkelbraun und gibt mit mehr Kupfersalz einen Niederschlag von der Farbe des Schwefelkupfers.

c) Durch ein Kupferoxydulsalz (eine heisse Lösung von Kupfervitriol und saurem Sulfit) wird das Rhodan quantitativ gefällt. Der Niederschlag ist weiss, nimmt aber durch Beimengung von schwefligsaurem Kupferoxyduloxyd leicht eine rötliche Farbe an.

d) Sulfocyansilber. Die Sulfocyansalze geben mit salpetersaurem Silber einen weissen, dem Chlorsilber ähnlichen Niederschlag, der sich im Licht nicht so leicht schwärzt, wie das Chlorsilber und sich wie das Chlorsilber nicht in Salpetersäure, aber in Ammoniak löst; in verdünnten kalten Lösungen von Sulfocyaniden löst sich der Niederschlag nicht.

[1]) G. Krüss und H. Moraht, Ber. d. chem. Gesellsch. 22. 2054. 1889.

[2]) N. Tarugi, Gaz. chim. ital. 34. II. 326. 1904, zit. nach Chem. Zentralbl. 1905. I. 260.

[3]) G. Colasanti, Gazz. chim. 18. 397. 1888; Moleschotts Untersuchungen 14. 2. Hft.; Jahresber. f. Tierchem. 1889. S. 72; Ber. d. chem. Gesellsch. 22. Ref. 239.

Digitized by Google

e) Die Bleisalze. Versetzt man die Lösung eines Sulfocyanmetalls mit einer Lösung von neutralem essigsauren Blei, so setzen sich allmählich, schneller bei starkem Schütteln, glänzende gelbe Krystalle von Sulfocyanblei $(CNS)_2Pb$ ab. Dieselben sind in kaltem Wasser unlöslich und zersetzen sich beim Kochen mit Wasser. — Auf Zusatz von basisch essigsaurem Blei oder von neutralem essigsauren Blei und Ammoniak geben die löslichen Sulfocyanwasserstoffsalze einen weissen käsigen Niederschlag von basischem Salz $(CNS)_2Pb. Pb(OH)_2$, der beim Trocknen gelblich und pulverig wird, in Wasser völlig unlöslich ist und sich beim Erwärmen mit Salpetersäure heftig unter Bildung von schwefelsaurem Blei zersetzt; in der sauren Flüssigkeit ist nur wenig Blei gelöst enthalten.

4. Mit Schwefelwasserstoff liefert die Säure Ammoniak und Schwefelkohlenstoff

$$CNSH + H_2S = H_3N + CS_2.$$

5. Beim Erwärmen mit verdünnter Schwefelsäure in grossem Überschuss zersetzt sich die Säure (oder ein Salz derselben) zu Ammoniak und Kohlenoxysulfid, das seinerseits in Kohlensäure und Schwefelwasserstoff zerlegt wird.

$$CNSH + H_2O = COS + H_3N; \quad COS + H_2O = CO_2 + H_2S.$$

Zweifach saures Phosphat verhält sich wie die Schwefelsäure. Bei Verwendung von organischen Säuren wird zwar das Kohlenoxysulfid entwickelt, das Ammoniak aber (zu Säurenitril oder Säureamid) gebunden.

6. Beim Kochen einer Rhodansalzlösung mit Alkalihydrat oder doppeltkohlensaurem Alkali entsteht kohlensaures Ammon, aber keine Blausäure und kein Sulfid.

7. Permanganat in saurer Lösung, sowie salpetrige Säure oxydieren den Rhodanwasserstoff schon in der Kälte, Salpetersäure in der Wärme unter Entwickelung von Blausäure (Erlenmeyer, Volhard[1]) nach der Gleichung:

$$CNSH + 3O + H_2O = H_2SO_4 + CNH.$$

Salpetersäure liefert neben der Blausäure in der Wärme auch Stickstoffoxyd und Kohlensäure.

Es entwickelt sich daher Blausäure, wenn man eine Flüssigkeit, in der man Rhodansalz mit Silbernitrat gefällt hat, mit Salzsäure versetzt.

8. Jodsäure wird von Rhodanwasserstoff zu Jod reduziert, das durch die Blaufärbung nach Stärkezusatz augenfällig gemacht werden kann (Solera, Polacci[2]).

9. Calomel wird zu metallischem Quecksilber reduziert unter gleichzeitiger Bildung von Mercurirhodanid (Polacci):

$$2\,HgCl + 2\,KCNS = Hg + Hg(CNS)_2 + 2\,KCl.$$

[1]) E. Erlenmeyer, Zeitschr. f. Chem. 1859. S. 202. — Volhard, Ann. d. Chem. **190**. 60. 1877.

[2]) L. Solera, Rendiconti del R. Instit. Lombardo (II) **10**. 371. 1877, zit. nach Jahresber. f. Tierchem., **7**. 256. — E. Polacci, Diffusion de l'acide sulfocyanique dans les deux règnes organiques. — Son action sur le calomel. — Études originales. Mailand 1904, zit. nach Chem. Zentralb. **1904**. I. S. 1070.

Digitized by Google

Die Reaktion ist ebensowenig wie die sub 8. angegebene für den Rhodanwasserstoff charakteristisch (A r c h e t t i[1])).

10. Neutrale Rhodanidlösungen nehmen bei gewöhnlicher und erhöhter Temperatur keine oder unbedeutende Mengen Jod auf. Dagegen entfärben mit Natriumbicarbonat alkalisch gemachte Lösungen grosse Mengen Jodlösung momentan, erst gegen Ende der Reaktion verlangsamt sich die Aufnahme dermassen, dass Zeitintervalle von etwa 10 Minuten erforderlich sind, um die letzterforderlichen $^1/_{10}$ ccm Jodlösung zu entfärben (R u p p und S c h i e d[2])).

Die Reaktion verläuft nach der Gleichung:

$$KCSN + 8\,J + 4\,H_2O = H_2SO_4 + 6\,HJ + KJ + JCN.$$

Anwendung der Reaktion zur quantitativen Bestimmung und Wirkung von Salzsäure auf die Reaktionsprodukte siehe D. c).

11. Mit Zink und Salzsäure liefert der Rhodanwasserstoff u. a. Schwefelwasserstoff.

12. a) Eine konzentrierte Lösung von Rhodankalium färbt sich mit Salpetersäure oder salpetriger Säure blutrot; die Färbung verschwindet beim Erwärmen oder auf Zusatz von Wasser. — b) Wässerige Rhodanwasserstofflösung erzeugt auf Papier, wenn das Wasser verdunstet ist, einen bald verschwindenden roten Fleck. — c) Tränkt man nach B ö t t g e r einen Streifen schwedischen Papiers mit Guajaktinktur, lässt ihn trocken werden, zieht ihn dann durch eine 2000 fach verdünnte Kupfervitriollösung und lässt einen Tropfen einer Rhodansalzlösung auf denselben fallen, so bläut sich diese Stelle. — d) Eine sehr verdünnte Rhodanidlösung gibt mit einigen Tropfen 20 %iger alkoholischer Naphtollösung und ihrem doppelten Volumen konzentrierter Schwefelsäure nach C o l a s a n t i[3]) eine starke Violettfärbung.

C. N a c h w e i s und I s o l i e r u n g. Die folgenden unter a—e angeführten Reaktionen besitzen nur einen zweifelhaften Wert. Sicherer sind die Methoden (f—h), welche von der Isolierung des Rhodanwasserstoffes ausgehen.

a) Man verdünnt nach K ü l z Eisenchloridlösung, welcher ein paar Tropfen Salzsäure zugesetzt sind, mit Wasser soweit, bis die Flüssigkeit in gleich dicker Schicht die Farbe des Harns besitzt, den man auf Sulfocyanwasserstoff prüfen will, bringt dann einen Tropfen Harn auf einen Porzellanteller und setzt in die Mitte dieses einen Tropfen der Eisenchloridlösung. Bei Gegenwart von Rhodansalz entsteht nach einiger Zeit ein rötlicher Ring, der namentlich beim Eintrocknen

[1]) A. A r c h e t t i, Boll. Chim. Farm. **43**. 239, zit. nach Chem. Zentralbl. 1904. I. S. 1466.

[2]) E. R u p p und A. S c h i e d, Ber. d. chem. Gesellsch. **35**. 2191. 1902.

[3]) B ö t t g e r, Zeitschr. f. analyt. Chem. **11**. 350. — C o l a s a n t i, Moleschotts Untersuchungen **14**. 4. Heft; Jahresber. f. Tierchem. 1889. 74. u. 1891. 44.

Digitized by Google

deutlicher wird. Auch viele andere Harnbestandteile färben sich mit Eisenchlorid rot (vgl. S. 268).

b) Man fällt 100 ccm Harn mit Barytwasser aus, dampft das Filtrat zur Sirupkonsistenz ein, zieht den Rückstand mit Alkohol aus, verdunstet den Alkohol, löst den Rückstand in Wasser, entfärbt die Lösung mit Tierkohle und fügt einige Tropfen verdünnter Eisenchloridlösung zu. Bei Anwesenheit von Sulfocyanid tritt eine blutrote Färbung ein, welche beim Kochen und bei Zusatz von (eisenfreier) Säure nicht verschwindet (Gscheidlen). (Vergl. S. 268). Ebenso kann man die Prüfung auf Rhodanid nach Colasanti mit Kupfersulfat (B. 3. b) vornehmen.

c) Man bringt in den eiweissfreien Harn einige Stückchen metallisches Zink, fügt Salzsäure hinzu und hält in die Mündung des Gefässes einen mit essigsaurem Blei und Ammoniak benetzten Streifen Filtrierpapier; derselbe schwärzt sich bei Gegenwart von Rhodansalz im Harn. — Die meisten Zinksorten entwickeln mit Salzsäure für sich Schwefelwasserstoff; nur elektrolytisch abgeschiedenes Zink ist sicher schwefelfrei. — Entwickelt der Harn mit schwefelfreiem Zink Schwefelwasserstoff, so ist die Probe nur dann auf Rhodansalz zu beziehen, wenn der Harn weder unterschweflige Säure noch Cystin enthält.

d) Man prüft nach B. 12. c.

e) Harn wird mit Barytwasser ausgefällt, das Filtrat eingedampft und nach dem Ansäuern mit Phosphorsäure der Destillation unterworfen. Im Destillat ist Schwefelwasserstoff und Sulfocyanwasserstoff nachweisbar (Gscheidlen).

f) Es werden nach Munk 200 ccm Harn mit Salpetersäure angesäuert, darauf mit salpetersaurem Silber ausgefällt; der Niederschlag wird abfiltriert, unter Wasser mit Schwefelwasserstoff zerlegt und die Flüssigkeit der Destillation unterworfen. Das Destillat wird mit einer eisenoxydhaltigen Eisenvitriollösung versetzt, mit Kali- oder Natronlauge alkalisch gemacht, samt dem entstandenen Niederschlag gelinde erwärmt und mit Salzsäure angesäuert. War in dem Silberniederschlag Rhodansilber enthalten, so findet sich in der zuletzt erhaltenen Lösung ein Niederschlag von Berlinerblau vor; sie gibt entweder sogleich blaue Flocken, oder es setzen sich solche aus der grünen Flüssigkeit beim Stehen ab.

g) Man fällt aus Harn die Rhodanwasserstoffsäure nach Gscheidlen als Bleisalz. Der Harn wird zu diesem Zwecke mit Barythydrat alkalisch gemacht, mit salpetersaurem Baryt ausgefällt, das Filtrat verdunstet, der Rückstand mit Alkohol ausgezogen, die Lösung eingedampft, der dabei gewonnene Rückstand in Wasser gelöst, mit neutralem essigsaurem Blei versetzt und sofort filtriert. Das Filtrat wird dann auf dem Wasserbad erwärmt. War im Harn Rhodansalz vorhanden, so setzt die Flüssigkeit bald ein gelbes krystallinisches Pulver des neutralen Salzes ab. Dasselbe wird mit einer Säure (Phosphorsäure) der Destillation unterworfen; im Destillat sucht man die Säure sowie ihre Zersetzungsprodukte.

h) Bruylants versetzt den Harn mit einem geringen Überschuss von Barythydrat, dampft auf die Hälfte ein, filtriert, verdunstet das Filtrat zum Sirup und zieht diesen mit 90%igem Alkohol aus. Zur Ent-

Digitized by Google

fernung des Harnstoffs wird der Auszug in der Kälte mit gesättigter alkoholischer Oxalsäurelösung ausgefällt, nach einigen Tagen die abgehobene Flüssigkeit zur Entfernung der überschüssigen Oxalsäure mit Kalkhydrat alkalisch gemacht, erwärmt und heiss filtriert. Der nach dem Abdestillieren des Alkohols bleibende Rückstand wird in Wasser gelöst, mit Tierkohle entfärbt, mit überschüssiger Salzsäure versetzt und wiederholt mit Äther ausgeschüttet, welcher den Rhodanwasserstoff aufnimmt. Schüttelt man den Äther darauf mit verdünnter Eisenchloridlösung, so nimmt er infolge der Bildung von Ferrirhodanid eine rote Färbung an.

D. Bestimmung des Rhodans.

a) Als Silberverbindung.

1. Lang[1]) titrierte zuerst den Harn nach Volhard (s. S. 76) und ermittelte so die Menge des vorhandenen Chlors und Rhodans; dann wurde ein anderer Anteil Harn mit Salpeter verascht und in der Schmelze das Chlor allein bestimmt. Die Differenz ergab die Menge des Rhodans. Dem Harn zugesetztes Rhodanid liess sich scharf wiederfinden.

Oder es wurde dem stark angesäuerten Harn der Rhodanwasserstoff durch Extraktion mit Äther im Extraktionsapparat entzogen, an Alkali gebunden und die Lösung nach Volhard titriert wie bei der Silberbestimmung.

2. Munk[2]) fällte 100 ccm Harn unter Zusatz von Salpetersäure und Silbernitrat vollständig aus, wusch den Niederschlag und bestimmte in ihm durch Schmelzen mit Soda und Salpeter den Schwefel. Aus der Menge desselben wird die Menge des Rhodanwasserstoffs berechnet.

Sowohl die erste Methode von Lang wie die von Munk können falsche Werte geben, falls in den Silberniederschlag noch andere Verbindungen mitgerissen werden, die Munksche Methode nur dann, wenn die mitgerissenen Substanzen schwefelhaltig sind. Für den Harn von Hunden und Katzen sind deshalb beide Methoden nicht anwendbar, falls Thiosulfate vorhanden sind.

b) Kolorimetrisch.

1. Gscheidlen[3]) dampfte 50 ccm Harn auf ein Drittel ein, versetzte den Rückstand mit Kalkmilch, säuerte das Filtrat an und fügte ihm einige Tropfen Eisenchlorid hinzu. Diese Lösung wurde in planparallelen Glaskästchen von gleichem Durchmesser mit einer Rhodankaliumlösung verglichen, welche im ccm 0,0167 g getrocknetes Salz enthielt und mit Eisenchlorid bis zu vollständiger Rotfärbung versetzt war. Diejenige der beiden Lösungen, welche stärker gefärbt war, wurde mit zugemessenen Mengen Wasser bis zur Farbengleichheit verdünnt und aus der Konzentration die Menge des Rhodankaliums berechnet. Dieses Verfahren kann keinen grossen Anspruch auf Genauigkeit machen (vgl. S. 188. IV.).

---

[1]) S. Lang, Archiv f. exper. Pathol. **34**. 253. f. 1894.
[2]) I. Munk, Virchows Arch. **69**. 358 u. 351. 1877.
[3]) R. Gscheidlen, Pflügers Arch. **14**. 408. 1877.

Digitized by Google

2. Bruylants[1]) engte 200 ccm Harn mit einem leichten Überschuss von Soda auf 40 ccm ein, schüttelte den Rückstand nach Zusatz von 10 ccm konzentrierter Salzsäure dreimal mit 20—25 ccm Äther, entfärbte mit Tierkohle und schüttelte den Äther dreimal mit einer 1 %igen Eisenchloridlösung. Die so erhaltenen roten Flüssigkeiten wurden vereinigt zur colorimetrischen Bestimmung verwendet. Auch dieses Verfahren kann keine genauen Resultate geben.

3. De Souza[2]) verfährt im Anschluss an Munks Versuche folgendermassen:

Ein gemessenes Quantum Urin wird in salpetersaurer Lösung mit Silbernitrat gefällt. Der ausgewaschene Silberniederschlag wird samt dem Filter in Wasser aufgeschwemmt und mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Der Schwefelsilberniederschlag wird abfiltriert und gut abgepresst; das Filtrat wird auf ein bestimmtes Volum gebracht und in einem Kolorimeter bestimmt durch Vergleich der Färbung mit der einer titrierten Rhodanlösung.

c) Jodometrisch.

Die jodometrische Bestimmung des Rhodans ist von Rupp und Schied ausgearbeitet, für die Bestimmung im Harn von Edinger und Treupel, Edinger und Clemens und deren Mitarbeitern zuerst angewandt worden.

Das Prinzip der Methode ist unter B. 10. auseinandergesetzt. Für den Harn gestaltet sie sich nach der Beschreibung von Edinger und Clemens[3]) folgendermassen.

Erfordernisse.

1. Salpetersäurehaltiges Wasser (1 : 100).
2. 3 % ige Silbernitratlösung.
3. Kieselgur; der gewöhnliche Kieselgur wird mit Salpetersäure angerührt, mehrmals mit Wasser durchgespült, getrocknet und in einem Silbertiegel geglüht.
4. Reines Natriumbicarbonat.
5. Jodkalium.
6. $n/_{10}$-Jodlösung.
7. $n/_{10}$-Natriumthiosulfatlösung.
8. 10 % ige Salzsäure.
9. 2 % ige Stärkelösung: 100 ccm Wasser werden in einem Becherglas zum Kochen erhitzt; 2 g reine lösliche Ozonstärke unter fortwährendem Umrühren langsam in das Wasser geschüttet und über der

[1]) J. Bruylants, Bull. de l'Acad. de méd. de Belgique (4) 2. 18; Jahresber. f. Tierchem. 1888. S. 135.
[2]) D. H. de Souza. Journ. of physiol. 35. 332. 1907.
[3]) A. Edinger und P. Clemens, Zeitschr. f. klin. Med. 59. 224. 1906.

Digitized by Google

Flamme etwa 5 Minuten verrührt. Die hergestellte Lösung muss opaleszierend sein und darf keine Stärkepartikelchen enthalten, bezw. muss filtriert werden.

Ausführung.

Eine klar filtrierte, bezw. durch Kochen vom Eiweiss befreite Harnmenge von 50—100 ccm wird in einem mässig grossen Becherglase mit stark verdünnter Salpetersäure angesäuert und mit einem Überschuss von Silbernitratlösung gefällt. Für 100 ccm Harn braucht man meist etwa 100 ccm Silbernitratlösung. Zur feineren Verteilung des Niederschlags setzt man eine Messerspitze Kieselgur zu und verrührt sie mit dem Niederschlag. Der Glasstab ist sorgfältig abzuspülen. Man lässt auf dem Wasserbad den Niederschlag (etwa 10 Minuten) gut absitzen, überzeugt sich, dass alles ausgefällt ist, und saugt durch eine mit Asbest belegte Siebplatte oder ein Papierfilter mit Platinkonus an der Pumpe ab. Das Filtrat muss vollkommen klar sein, eventuell mehrmals durchgesaugt werden. Der Niederschlag wird mehrmals mit salpetersäurehaltigem Wasser gewaschen und mit der Unterlage in ein 1 Liter fassendes Glasstopfenglas mit etwas Wasser gebracht.

Man gibt 3 g Natriumbicarbonat oder falls nötig noch mehr — bis zur alkalischen Reaktion — zu, dann 3 g Jodkalium, um das Chlorsilber in Jodsilber überzuführen, und löst durch sanftes Umschwenken das Bicarbonat und das Jodkalium. Man verteilt den Niederschlag mit einem Glasstab in der Flüssigkeit und lässt eine abgemessene Menge $n/_{10}$-Jodlösung bis zur deutlichen Braunfärbung zufliessen (meist 20 ccm).

Die gut verschlossene Flasche wird 2—4 Stunden im Dunkeln gelassen, mit 10 %iger Salzsäure vorsichtig angesäuert, weil bei zu stürmischer Kohlensäureentwickelung Verluste an Jod eintreten und mit $n/_{10}$-Thiosulfatlösung unter Anwendung von Stärkelösung als Indikator bis zur Entfärbung zurücktitriert.

Berechnung.

Da beim Ansäuern 1 Molekül Jodcyan und 1 Molekül HJ sich nach der Gleichung

$$CNJ + HJ = HCN + J_2$$

umsetzen, so entspricht ein Rhodan-Jon nicht 8 (s. B. 10.) sondern 6 Atomen Jod bei der Titration mit Thiosulfat; also $CNS' = 58 = 6\,J$; $\frac{CSN'}{6} = 9{,}67 = J$; $\frac{CNS'}{60} = \frac{J}{10}g$; d. h. 1000 ccm $n/_{10}$ J = 0,967 g, oder 1 ccm $n/_{10}$-Jodlösung entspricht 0,967 mg Rhodan.

Digitized by Google

Die Kontrollproben im Harn mit Zusatz von Rhodankalium ergaben Verluste von 4—8 % des zugesetzten Rhodans. Der Kieselgurzusatz kann unterbleiben und durch einfaches Verrühren des Niederschlags mit dem Glasstab ersetzt werden.

Harnsäure geht bei der Fällung nach Edinger und Clemens nicht mit in den Niederschlag. Inwieweit Albumosen und andere pathologische Harnbestandteile die Genauigkeit der Bestimmung beeinflussen, ist nicht festgestellt.

II. Methylmercaptan.

$CH_3 \cdot SH$.

A. Vorkommen. Das Methylmercaptan ist von M. Nencki und Sieber, sowie Selitrenny als Fäulnisprodukt von Eiweiss und Leim, von Wohlgemuth speziell als Fäulnisprodukt des Cysteins erkannt worden. Nach L. Nencki findet es sich in den Dickdarmgasen. Wie zahlreiche Versuche von C. A. Herter[1]) gezeigt haben, bilden aërobe Mischkulturen von Bakterien aus den Fäces gesunder Menschen in Peptonlösungen Spuren von Methylmercaptan, beträchtlichere Mengen aber wurden nur aus den Fäceskulturen von pathologischen Fällen sehr verschiedener Art erhalten.

Aus Harn wurde das Mercaptan zuerst von M. Nencki nach Spargelgenuss gewonnen durch Destillation mit Oxalsäure. In der gleichen Weise isolierte es Rubner aus dem Harn nach Genuss von Blumenkohl, Teltower Rübchen und Rotkohl. Nach Rekowski, einem Schüler Nenckis, geht bei Kaninchen, die mit Methylmercaptan vergiftet werden, ein Teil unverändert in den Harn. Da Blumenkohl, Teltower Rübchen und Rotkohl schon beim Kochen mit Wasser das Mercaptan abgeben (Niemann[2])), so handelt es sich hier wohl ebenfalls um unveränderten Übergang in den Harn, wofür auch der Geruch spricht. Dagegen riecht Harn nach Spargelgenuss anders als der Kaninchenharn nach der Mercaptanvergiftung, und Rekowski vermutet des-

[1]) M. Nencki und N. Sieber, Monatsh. f. Chem. **10**. 526. 1890. — L. Selitrenny, daselbst **10**. 908. — J. Wohlgemuth, Zeitschr. f. physiol. Chem. **43**. 469. 1905. — L. Nencki, Monatsh. f. Chem. **10**. 862. 1890. — C. A. Herter, Journ. of biol. chem. **1**. 421. 1906.

[2]) M. Nencki, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **28**. 206. 1891. — M. Rubner (mit F. Niemann und Stagnitta-Balistreri). Arch. f. Hygiene **19**. 136. 1893. — L. Rekowski, Arch. des sciences biol. **2**. 205. 1893. — F. Niemann, Arch. f. Hygiene **19**. 126. 1893.

Digitized by Google

halb, dass das von Nencki nachgewiesene Methylmercaptan wohl erst durch Zersetzung einer anderen schwefelhaltigen Verbindung bei der Destillation mit Oxalsäure entstanden sei.

Karplus[1]) sah das Mercaptan im Harne bei der Vegetation eines Schwefelwasserstoff bildenden Bakteriums in demselben auftreten.

B. Eigenschaften.

Das Methylsulfhydrat ist von Klason[2]) in reinem Zustand dargestellt und von ihm, sowie von Rubner in Gemeinschaft mit Niemann und Stagnitta-Balistreri untersucht worden.

1. Farblose, widerlich riechende, bei 5,8° siedende Flüssigkeit, bei gewöhnlicher Temperatur also gasförmig (Kl.). Nach Carrara und Coppadoro[3]) liegt der Siedepunkt bei 20°.

2. Verbindet sich mit Metallen. Eine Lösung des Mercaptans in Alkalihydrat besitzt nur einen schwachen Geruch. Mit den schweren Metallen bildet es Niederschläge.

a) Bleimercaptid. $(CH_3.S)_2Pb$, entsteht als krystallinischer zitronengelber Niederschlag beim Einleiten des Gases in eine Bleiacetatlösung (K.) oder beim Mischen einer alkalischen Mercaptanlösung mit Bleiacetat (R.). Verwandelt sich meist in bräunliche Tafeln (R.). In Wasser, Alkohol, Äther unlöslich, aber in erheblichem Masse löslich in Bleiacetatlösung (R.). Beim Waschen mit Alkohol werden die braunen Krystalle etwas dunkler, beim Waschen mit Äther zitronengelb (R.). In trocknem Zustand gegen Wärme sehr widerstandsfähig (R.), zerfällt aber beim Erhitzen zuletzt in Methylsulfid und Schwefelblei (K.). Geht in feuchtem Zustand in das Mercaptan und in Bleihydrat über (K.) und zersetzt sich in dieser Weise vollständig beim Kochen mit Wasser (R.). Mineralsäuren entwickeln aus ihm das Mercaptan (K.). Im Licht wird die Verbindung nach Klason geschwärzt, nach Rubner dagegen nicht. — Bei gleichzeitiger Gegenwart von Schwefelwasserstoff ist der Niederschlag rötlich oder rötlich braun und wird leicht schwarz (R.). Bleipapier färbt sich in dem Gase gelbbräunlich, dann bald braun und endlich schwarz (R.).

b) Quecksilbermercaptid. $(CH_3.S)_2Hg$ fällt beim Einleiten des Gases in eine Quecksilbercyanidlösung in Form mikroskopischer vierseitiger Prismen (K.); der Niederschlag ist weiss und einer Kalkseife ähnlich (R.). Die Fällung ist auch in Gegenwart von viel Quecksilbercyanid nahezu vollständig (R.). Beinahe unlöslich in Methyl- und in Äthylalkohol. Schmilzt bei 175° unter Zersetzung. Wird durch Salzsäure in der Kälte zu $CH_3.S$ - HgCl zersetzt, wobei die Hälfte des Mercaptans frei wird. Dieselbe Verbindung entsteht auch als körniger Niederschlag bei der Einwirkung des Mercaptans auf Quecksilberchlorid. Bei der Behandlung des Quecksilbermercaptids mit essigsaurem Quecksilber geht dasselbe nach Bertram[4]) als eine Verbindung von 1 Mol. Mercaptid mit 2 Mol. Quecksilberacetat in Lösung; Quecksilberchlorid schlägt aus der Lösung nahezu alles Mercaptan in Form der chlorhaltigen Verbindung nieder.

c) Goldchlorid, Platinchlorid, Palladiumchlorid werden durch das Mercaptan sofort gefällt, Palladium besonders leicht in Gegenwart von etwas Salpetersäure. Der Platinniederschlag löst sich in Alkohol und in Äther. Die Palladiumverbindung $(CH_3.S)_2Pd$ wird bei Erhitzen heller, ziegelrot. Das Goldsalz hat die Zusammensetzung $(CH_3.S)_3Au$ (R.).

[1]) J. P. Karplus, Virchows Arch. **131**. 221. 1893.

[2]) P. Klason, Bericht d. chem. Gesellsch. **20**. 3408. 1887.

[3]) G. Carrara u. A. Coppadoro, Gazz. chim. ital. **33**. I. 329. 1903. zit. n. Chem. Zentralbl. 1903. II. 615.

[4]) A. Bertram, Berichte der chem. Gesellsch. **25**. 64. 1892.

Digitized by Google

d) Es sind auch ähnliche unlösliche Verbindungen des Mercaptans mit Wismuth, Silber (K.) und Kupfer (R.) dargestellt worden. Eisensalze, auch organische, geben mit dem Mercaptan keine Niederschläge (R.).

3. Farbenreaktionen.

a) Isatinschwefelsäure (eine Auflösung von Isatin in konzentrierter Schwefelsäure) wird nach Denigès[1]) durch Methylmercaptan, wie durch die Mercaptane überhaupt, schön grün gefärbt. Die Alkylsulfide, schweflige Säure, Schwefelwasserstoff geben diese Reaktion nicht, die höheren Aldehyde oder Alkohole zerstören oder verdecken die Färbung.

b) Eine alkalische Nitroprussidnatriumlösung wird durch Methylmercaptan (und andere Mercaptane) violettrot (Denigès)[1]). Beim Stehen, sowie beim Ansäuern mit organischen oder anorganischen Säuren wird die Probe (mit Äthylmercaptan) nach v. Bitto[2]) gelb, die angesäuerte Probe beim Übersättigen mit Alkali wieder violettrot. Die Färbung ist gleich der durch Sulfide hervorgerufenen. Die Alkylsulfide und die schweflige Säure sind nach Denigès ohne Einwirkung auf das Reagens, nach v. Bitto wird es aber durch Äthylsulfid rot.

c) Durch Jod wird das Methylhydrosulfid nach Rubner[3]) zu Disulfid oxydiert: $2\,CH_3.SH + J_2 = CH_3.S\text{-}S.CH_3 + 2\,HJ$. Diese Reaktion ist zur quantitativen Bestimmung des Mercaptans geeignet.

C. Nachweis. Auf den Geruch allein darf man sich beim Nachweis des Mercaptans nicht verlassen. Die Reagentien sind von ungleichem Werte; am wenigstens empfindlich ist nach Rubner eine konzentrierte Bleizuckerlösung wegen der Löslichkeit des Bleimercaptids im Reagens, besser geeignet ist eine 3 %ige Bleiacetatlösung; dann folgen, mit zunehmender Empfindlichkeit, eine mit wenig Salzsäure versetzte Quecksilbercyanidlösung, Isatinschwefelsäure, Gold- und Platinchlorid. Diese Edelmetalle zeigen noch den hundersten Teil der durch konzentrierte Bleizuckerlösung erkennbaren Menge an. Die geringste noch nachweisbare Menge beträgt 0,06 mg. Über die Empfindlichkeit des Nitroprussidnatriums liegen keine Erfahrungen vor. Um ungefähr 50 ccm der roten Isatinlösung in 10 Minuten tief grün zu färben, genügen 25 mg einer 1%igen Methylmercaptanlösung (Herter[4])).

Bei dem Nachweis des Mercaptans im Harn verfuhr M. Nencki in der Weise, dass er den gesamten zur Verfügung stehenden Harn nach reichlichem Zusatz von Oxalsäure der Destillation unterwarf und die entweichenden Gase durch eine 3%ige Quecksilbercyanidlösung leitete. Der entstandene Niederschlag wurde gewaschen und mit einigen Kubikzentimetern 5 %iger Salzsäure aus einem Reagenzglas destilliert. In der vorgelegten Bleiacetatlösung entstand an den Wänden des Gasleitungsrohres wie am Boden des Gefässes ein gelber krystallinischer Niederschlag.

[1]) G. Denigès, Comptes rendus **108**. 350. 1889.
[2]) B. v. Bittó, Annal. d. Chem. **267**. 379. 1892.
[3]) Rubner, a. a. O. S. 154.
[4]) Rubner, a. a. O. S. 145. — Herter, a. a. O. S. 422.

Digitized by Google

Rubner empfiehlt das Durchsaugen von Luft während der Destillation für die vollständige Gewinnung des Mercaptans. Den Dampf kondensiert er durch ein Kühlrohr, sammelt das Destillat in einer Woulffschen Flasche auf und lässt nur das Gas durch die Quecksilberlösung streichen; nach Beendigung der Destillation muss aber noch Luft durch die Flüssigkeit in der Vorlage getrieben werden. — Nachdem Nencki von dem Harn ungefähr 50 ccm abdestilliert hatte, nahm der Niederschlag nicht mehr zu.

Die Quecksilbercyanidlösung kann gesättigt sein. Für die vollständige Absorption des Mercaptans ist als Vorlage ein Kölbchen oder ein (Péligotsches) U-Rohr nicht geeignet. Rubner verwendet dazu ein Pettenkofersches Barytrohr (ein schräg liegendes langes und weites Rohr). Ein Kugelapparat dürfte dasselbe leisten. Der Quecksilberniederschlag braucht nicht weiss zu sein, wie bei der Bildung desselben aus reinem Mercaptan; mitgefälltes Schwefelquecksilber bleibt aber bei der nachfolgenden Destillation mit Salzsäure unzersetzt zurück.

Charakteristisch für das Mercaptan ist die gelbe Farbe und die krystallinische Beschaffenheit (Tafeln und Prismen) des Bleiniederschlags. Da das Bleimercaptid in Bleiacetatlösung löslich ist, so entgeht ein Teil des Sulfhydrats dem Nachweis. Nach Rubner ist eine 3 %ige Bleiacetatlösung die geeignetste. Für eine Bleibestimmung im Niederschlag dürfte die Menge desselben nur selten ausreichen. Man führt sie aus, indem man den Niederschlag mit Schwefelsäure benetzt, die Schwefelsäure abraucht und den Rückstand glüht. Bleimercaptid enthält 68,76 % Pb und liefert 100,66 % $PbSO_4$.

Die Isatinschwefelsäure wendet man zum Nachweis des Methylmercaptans nach Rubner am besten in der Weise an, dass man das mittelst Chlorcalcium getrocknete Gas über Tontäfelchen streichen lässt, welche mit der Isatinschwefelsäure getränkt sind. Der von der Isatinschwefelsäure gelbrötliche Ton färbt sich bei Gegenwart des Mercaptans grün; später geht die Farbe in graublau über. Lässt man das Gas in die Isatinschwefelsäure selbst eintreten, so nimmt man die Grünfärbung am besten da wahr, wo die Flüssigkeit eine dünne Schicht bildet (am Gasleitungsrohr, an der Wand des Gefässes). Aus dem Reagens lässt sich nach dem Verdünnen ein Teil des Mercaptans durch Destillation wieder gewinnen.

Bei der Verwendung alkalischer Nitroprussidnatriumlösung schliesst man einen Irrtum durch gleichzeitig auftretenden Schwefelwasserstoff nach Denigès in der Weise aus, dass man die Nitroprussidlösung mit etwas einer Auflösung von Bleihydrat in Natron- oder Kalilauge versetzt. Der Schwefelwasserstoff wird dann als Schwefelblei abgeschieden.

III. Äthylsulfid.

$$C_2H_5 - S - C_2H_5.$$

A. Vorkommen. Die widerlich riechende Substanz, welche auf Zusatz von Kalkmilch oder Alkalihydrat zu Hundeharn auftritt, ist nach der erschöpfenden Untersuchung von Abel Äthylsulfid (nach dem chemischen Verhalten ist auch Methyläthylsulfid nicht ausgeschlossen). Die Verbindung, aus welcher das Sulfid entsteht, ist nach Neuberg und Grosser Diäthylmethylsulfiniumhydroxyd $(C_2H_5)_2 . S . (CH_3) . OH$ (siehe S. 115), das seinerseits nach Aufnahme von Äthylsulfid durch Methylierung entstehen und im Harn als Salz ausgeschieden werden soll. Die Entstehung von Äthylsulfid bei der Fäulnis von Cystein ist von

Wohlgemuth[1]) nachgewiesen. Nach der Fütterung mit Fleisch allein scheint der Harn mehr Äthylsulfid zu liefern als nach gemischtem Futter (Abel).

B. Eigenschaften.

Von den Eigenschaften der Substanz wird hier nur so viel erwähnt, als zur Kennzeichnung derselben und für ihren Nachweis erforderlich ist. Abel hat einige neu aufgefundene Eigenschaften des Harnsulfids mit denen des synthetisch erhaltenen Sulfids verglichen.

1. Das Äthylsulfid bildet eine eigentümlich unangenehm riechende, bei 91—92° siedende Flüssigkeit. Der unangenehme Geruch scheint auf einer Verunreinigung zu beruhen. Durch 6—8stündiges Erhitzen mit Kupferpulver auf 260—280° verliert es nach Finckh[2]) den widerlichen Geruch und riecht dann ähnlich wie stark verdünnter Äther. Es löst sich nur wenig in reinem oder in angesäuertem Wasser, wird aber von konzentrierter Schwefelsäure in ziemlich grosser Menge gelöst. Diese Lösung ist geruchlos, entwickelt aber beim Eintragen von Eis in dieselbe oder beim Verdünnen mit 4%iger auf 0° abgekühlter Schwefelsäure den Geruch nach dem Sulfid.

2. Eine wässerige, alkoholische oder ätherische Lösung des Äthylsulfids gibt mit Quecksilberchlorid einen aus Nadeln bestehenden Niederschlag, der nach dem Waschen mit Wasser und mit Alkohol aus wenig heissem Alkohol in langen, schmalen, stark lichtbrechenden Prismen krystallisiert. $(C_2H_5)_2S, HgCl_2$. Die reine Verbindung schmilzt bei 119° (Abel); aus den geschmolzenen, farblosen Tropfen schiessen beim Erkalten schöne, lange Prismen hervor. An der Luft verlieren die Krystalle und über Schwefelsäure auch die gepulverte Substanz Äthylsulfid unter Erhöhung des Schmelzpunktes.

3. Äthylsulfid verbindet sich nach Letts leicht mit Bromessigsäure zu dem Bromid der Äthylsulfinessigsäure $Br\text{-}(C_2H_5)_2 . S . CH_2 . COOH$, einem Thetin, nach Drechsel[3]) auch wenn sich die Bromessigsäure in wässeriger Lösung befindet. Die Lösung des Bromids lässt sich nach Drechsel einige Zeit ohne Zersetzung kochen, entwickelt aber beim Kochen mit Natronlauge Äthylsulfid; aus seiner Lösung wird das Bromid durch Phosphorwolframsäure gefällt.

4. Leitet man den Dampf des Sulfids zugleich mit Sauerstoff durch glühenden Asbest, so bildet sich Schwefelsäure.

[1]) J. J. Abel, Zeitschr. f. physiol. Chem. **20**. 253. 1894. — C. Neuberg und Grosser, Zentralbl. f. Physiol. **19**. 316. 1905. — J. Wohlgemuth, Zeitschr. f. physiol. Chem. **43**. 469. 1905.

[2]) J. Finckh, Ber. d. Chem. Ges. **27**. 1239. 1894.

[3]) E. A. Letts, Jahresber. f. Chem. 1878. S. 683. — E. Drechsel, Zentralbl. f. Physiol. **10**. 529. 1896.

Digitized by Google

5. Versetzt man eine Lösung des Sulfids unter gleichzeitigem Verdünnen mit einer konzentrierten Permanganatlösung und vollendet die Reaktion zuletzt durch Erwärmen, so entsteht Essigsäure und Schwefelsäure; die Essigsäure wird dabei teilweise zu Kohlensäure weiter oxydiert.

6. Durch Salpetersäure von 1,2 Dichte wird das Äthylsulfid zu Äthylsulfoxyd $(C_2H_5)_2SO$ oxydiert, in freiem Zustand eine dickflüssige, in Wasser leicht lösliche, leicht zersetzliche Verbindung, aus welcher sich durch Zink und Schwefelsäure das Sulfid wieder herstellen lässt. Durch rauchende Salpetersäure wird das Sulfid dagegen zu Diäthylsulfon $(C_2H_5)_2SO_2$ oxydiert; rhombische, in Wasser leicht lösliche Tafeln vom Schmelzpunkt 70° und Siedepunkt 248°; diese Verbindung liefert beim Behandeln mit Zink und Schwefelsäure das Sulfid nicht wieder.

7. Mit Brom und mit Jod bildet das Sulfid die dem Sulfoxyd analogen Verbindungen $(C_2H_5)_2$ SBr_2 und $(C_2H_5)_2$ SJ_2.

a) Setzt man nach Abel einige Tropfen einer ungefähr 2 %igen Lösung von Brom in Bromkalium zu einer Lösung des Sulfids in konzentrierter Schwefelsäure, oder rührt man Bromdampf in die vorher mit einigen Tropfen Wasser verdünnte schwefelsaure Lösung, so wird in einiger Zeit, bei Gegenwart von etwas grösserer Menge Sulfid erst in einigen Tagen, das Sulfid vollständig in die Bromverbindung übergeführt. Die Mischung riecht nach dem Verdünnen nicht mehr nach dem Sulfid; Zink macht aber das Sulfid wieder frei. Fügt man der bromhaltigen Lösung Jodkalium hinzu, so scheidet sich das schwarze ölige Jodid ab.

b) Die Verbindung des Sulfids mit Jod erhält man direkt, wenn man der Lösung des Sulfids in Schwefelsäure einige Tropfen einer ungefähr 0,05 normalen Lösung von Jod in Jodkalium hinzusetzt. Es bildet sich ein äusserst fein verteilter Niederschlag, der lange suspendiert bleibt, sich aber endlich in Form schwarzbrauner, öliger Tröpfchen absetzt. Dieser Niederschlag löst sich nicht in Wasser, entwickelt aber in Berührung mit Wasser den Geruch nach dem Sulfid. Lauge löst den Niederschlag farblos gleichfalls unter Rückbildung des Sulfids.

Diese Reaktion tritt in Gestalt einer schimmernden Wolke noch mit Spuren Äthylsulfid ein, mit der geringen Menge Sulfid, die sich beim Schütteln von 50 ccm Wasser mit 1—2 Tropfen des Sulfids löst, oder mit dem Destillat mit Kalkmilch versetzten Hundeharns. — Eine ähnliche wolkige Trübung geben mit dem Reagens nach Abbott auch wässerige Lösungen primärer Amine.

8. Salpetrige Säure färbt eine Lösung von Äthylsulfid in Schwefelsäure tief grün; die Färbung verschwindet beim Stehen der Mischung oder durch einen Überschuss von salpetriger Säure. Die grüne Lösung entwickelt beim Verdünnen noch den Geruch des Sulfids, die farblos gewordene aber erst nach der Behandlung mit Zink.

Man kann die Reaktion mit der Lösung eines Nitrits anstellen, zweckmässiger aber ist die Anwendung von Nitrososchwefelsäure, weil man mit dieser weniger Gefahr läuft, durch einen Überschuss die Färbung zu zerstören. Dieses Reagens erhält man nach Liebermann [1]), indem man in englische Schwefelsäure ungefähr 8 % eines Nitrits einträgt, 6—7 % Wasser hinzufügt und das auskrystallisierte Produkt auf Glaswolle abfiltriert.

[1]) C. Liebermann, Berichte d. chem. Gesellsch. 20. 3232. 1887.

Digitized by Google

Die Reaktion ist nicht sehr empfindlich und gelingt gut nur mit derjenigen Menge Sulfid, die man nach dem unter C beschriebenen Verfahren in einem vollen Tag aus 5—6 Liter Hundeharn gewinnen kann.

Das Liebermannsche Reagens gibt eine ähnliche Färbung mit Thiophen; aber hier geht die Grünfärbung bald in blau, dann in purpur über. Mit einer Lösung von Thiophen in Schwefelsäure versagt die Reaktion bald, weil sich Thiophensulfonsäure bildet. Übrigens fehlt beim Thiophen der Geruch des Äthylsulfids. — Die Mercaptane geben die Reaktion nicht.

C. Darstellung. Man entzieht Hundeharn, der mit Kalkmilch versetzt ist, durch einen Luftstrom das Sulfid und fängt es in konzentrierter Schwefelsäure auf. Die aus dem Harn austretende Luft muss von anderen Beimengungen befreit und sorgfältig getrocknet werden, weil schon mässig verdünnte Schwefelsäure das Sulfid erheblich schlechter bindet wie konzentrierte. Auch soll die Luft in den mit der Schwefelsäure beschickten Geisslerschen Apparat nur mit einer Geschwindigkeit wie bei der Elementaranalyse eintreten, weil sonst Verluste stattfinden können.

Abel leitet die mittelst einer Saugpumpe durch den Harn getriebene Luft durch zwei Waschflaschen mit 10 %iger Salzsäure, dann durch zwei Waschflaschen mit 40 %iger Natronlauge, durch ein 30 cm hohes, 2,5 cm weites U-Rohr mit Kalihydratstücken, durch ein ebensolches Rohr mit granuliertem Chlorcalcium und dann erst in die Schwefelsäure.

Abel hat das Gas aus zwei Waschapparaten mittelst eines T-Rohrs durch einen Geisslerschen Apparat geleitet, immer nur 2 Liter Harn auf einmal verwendet, diesen aber gewechselt und in 72 Stunden 15—20 Liter Harn verarbeitet. Die Ausbeute ist jedoch nur mässig.

Vielleicht lässt sich eine wässerige Lösung von Bromessigsäure mit mehr Vorteil zum Auffangen des Sulfids verwenden.

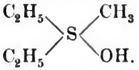
D. Nachweis. Auffällig ist das Äthylsulfid schon durch seinen widerlichen Geruch; vgl. indessen dazu die Beobachtung von Finckh (B. 1.), die Abel noch nicht bekannt war. Von Reaktionen sind namentlich zwei hervorzuheben, die mit Jod und die mit salpetriger Säure. Am empfindlichsten ist die Reaktion mit Jod (B. 7. b), doch ist sie, da primäre Amine eine ähnliche geben, nur bei Abwesenheit solcher auf die Gegenwart von Äthylsulfid zu beziehen. Nach Schiffer[1]) entwickelte Hundeharn mit Kalkmilch Methylamin, und das Auftreten der Jodreaktion in solchem, nicht weiter gereinigten Harndestillat wäre somit für die Gegenwart des Äthylsulfids nicht beweisend. Die Reaktion mit salpetriger Säure (B. 8.) erfordert grössere Mengen Substanz und kann durch einen Überschuss an Reagens leicht verdorben werden; doch kann man sie bei vorsichtiger Verwendung der Nitrososchwefelsäure auch noch mit geringeren Mengen Äthylsulfid, wie in dem angeführten Beispiel, erhalten. Die Quecksilberchloridverbindung liesse sich aus Harn zwar leicht, aber nur schwer in genügend reinem Zustande erhalten.

[1]) Schiffer, Ztschr. f. physiol. Chem. 4. 237. 1850.

Digitized by Google

Die Schwefelsäure, welche das Harnsulfid aufgenommen hatte, verdünnte Abel unter Abkühlung mit 4 %iger Schwefelsäure so weit, dass sie nur noch 30 % Säure enthielt, schüttelte mit Äther aus, wusch den Äther zweimal mit Wasser, versetzte ihn mit alkoholischer Quecksilberchloridlösung, dampfte erst auf dem Wasserbad auf zwei Drittel ein und trocknete vollends im Vacuum. Der stark nach Äthylsulfid riechende Rückstand wurde durch Waschen vom überschüssigen Quecksilberchlorid befreit, abermals über Schwefelsäure getrocknet und in wenig heissem Alkohol gelöst. Es schieden sich lange schmale stark glänzende Prismen aus, die noch mit amorpher Substanz verunreinigt waren. Sie schmolzen nach dem Trocknen, nicht wie die reine Verbindung bei 119 °, sondern einmal bei 145 °, ein andermal bei 150 °, und zwar zu schwarzen Tropfen. Aus diesen schossen jedoch, wie aus der geschmolzenen reinen Verbindung, beim Erkalten lange Prismen hervor.

IV. Diäthylmethylsulfiniumbase.



Über die Verbindung, welche die Muttersubstanz des im Hundeharn nach Alkalizusatz auftretenden Äthylsulfids sein und in welche verfüttertes Äthylsulfid übergehen soll, liegt bisher nur folgende kurze Mitteilung von Neuberg und Grosser[1]) vor:

Sie wird aus dem Harn durch Phosphorwolframsäure gefällt und kann durch Zersetzung des Niederschlags mit Schwefelsäure oder Salzsäure durch Wismutkaliumjodid ausgefällt werden und erwies sich als Diäthylmethylsulfiniumbase.

Die ausführliche Mitteilung ist bisher nicht erschienen (s. S. 115).

[1]) Neuberg und Grosser, Zentralbl. f. Physiol. **19**. 316. 1905. (Bericht über d. Verh. d. deutschen physiol. Gesellsch. II. Tagung.)

Digitized by Google

Aromatische Verbindungen.

Von A. Ellinger-Königsberg i. Pr.

Phenole.

Im normalen Harn des Menschen und der Tiere, namentlich der Pflanzenfresser, kommen mehrere Phenole vor, vorzugsweise Phenol, Parakresol und Brenzkatechin. Das Parakresol macht nach Baumann und Mooser weitaus die Hauptmenge der Phenole im Pferde-, Rinder- und auch im Menschenharn aus. Siegfried und Zimmermann[1]) fanden durchschnittlich im Gemisch der flüchtigen Phenole des Menschenharns etwa 58% Kresol und 42% Phenol.

Die Phenole werden nicht als solche, sondern der Hauptsache nach als Ätherschwefelsäuren (s. S. 87), wie zuerst Buliginsky und Hoppe-Seyler[2]) dargetan haben, und in kleinerer Menge als Glycuronsäureverbindungen ausgeschieden. An die isocyklischen Phenole schliesst sich das Indoxyl an. Auch ein geringer Teil der aromatischen Oxysäuren ist an Schwefelsäure gebunden.

Das Phenol, welches in dem ursprünglich phenolfreien Pferdeharn bei der Fäulnis desselben als solches auftritt, verdankt seinen Ursprung nicht der Phenolätherschwefelsäure, sondern den beiden aromatischen Oxysäuren, dagegen wird bei der Fäulnis der Brenzkatechinschwefelsäure Brenzkatechin frei (Preusse). Die unter normalen Verhältnissen im Harn auftretenden Phenole entstehen entweder bei der Fäulnis von Eiweiss im Darm und, unter pathologischen Verhältnissen, an anderen Körperstellen oder entstammen Benzolderivaten der Pflanzennahrung (Baumann). Über den Übergang von Benzol und Benzolderivaten in Phenole, die der Paarung mit Schwefelsäure und Glycuronsäure fähig sind, s. das Kap. „Körperfremde Stoffe". Dem Körper direkt zugeführte Phenole erscheinen im Harn als Ätherschwefelsäuren und verursachen eine Vermehrung dieser auf Kosten der Sulfatschwefelsäure (S. 87). Daneben wird stets ein Teil als gepaarte Glycuron-

[1]) E. Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 6. 183. 1882. — W. Mooser, ebenda 63. 155. 1909. — M. Siegfried und R. Zimmermann, Biochem. Zeitschr. 34. 471. 1911.

[2]) A. Buliginsky, Hoppe-Seyler's med.-chem. Untersuchungen 1866. S. 234. F. Hoppe-Seyler, Pflüger's Archiv 5. 470. 1872.

Digitized by Google

säure ausgeschieden. Ist die verfügbare Schwefelsäure zur Bindung der Phenole erschöpft, so wird die Paarung mit Glycuronsäure noch ausgiebiger (Baumann, Schmiedeberg, Fenyvessy und Kabdebo). Nach den quantitativen Untersuchungen von C. Tollens und F. Stern[1]) verhalten sich die verschiedenen Phenole hinsichtlich ihrer Paarung verschieden. Phenol paart sich vorzugsweise mit Glycuronsäure, Indoxyl mit Schwefelsäure. Bei Kresolvergiftungen werden Glycuronsäure und Schwefelsäure in ausgedehntem Masse zur Entgiftung gleichzeitig herangezogen.

Die von Baumann entdeckten und namentlich von ihm untersuchten Phenolätherschwefelsäuren sind nicht flüchtig, werden von Essigsäure nicht angegriffen, aber von Mineralsäuren in die betreffenden Phenole und Schwefelsäure zersetzt. Auch die Phenolglycuronsäuren werden durch Säuren in ihre Bestandteile zerlegt. Von den freien Phenolen sind die einatomigen (Phenol, die Kresole) flüchtig, die mehratomigen (Brenzkatechin, Hydrochinon) dagegen nicht.

I. Phenol.

$C_6H_5 . OH.$

Syn. Carbolsäure.

A. Vorkommen. Phenol ist zuerst von Staedeler im Kuhharn aufgefunden worden. Im Menschenharn sind nur geringe Mengen Phenol — worunter hier stets das aus den gepaarten Schwefel- und Glycuronsäuren frei gemachte Gemenge von Phenol und p-Kresol verstanden ist — vorhanden, in der Tagesmenge nach Munk 0,017—0,51 g, im Mittel nach Munk, Neuberg und Mooser 0,03 g, nach Kossler und Penny[2]) 0,07—0,106 g bei gemischter Kost, reichlicher nach Pflanzennahrung, im Hunger nach Munk nicht weniger als nach Nahrungsaufnahme. Im Harn der Pflanzenfresser finden sich bei weitem grössere Mengen Phenol.

J. Munk fand in 1 Liter Pferdeharn 0.913 g, E. Salkowski 1.2 g; im Liter Kuhharn schwankten die Werte des p-Kresols — Phenol war nicht vorhanden —

[1]) Preusse, Ztschr. f. physiol. Ch. **2**. 334. 1878. — E. Baumann, Pflüger's Archiv **13**. 299. 1876. — O. Schmiedeberg, Archiv f. exper. Pathol. **14**. 306. 1881. — B. v. Fenyvessy, Magyar Orvosi Archivum **6**. 1. zit. n. Jahrb. f. Tierchem. **35**. 726. — B. v. Fenyvessy u. G. v. Kabdebo ebenda **7**. 399, zit. n. Jahrb. f. Tierchem. **36**. 633. — C. Tollens, Ztschr. f. physiol. Ch. **67**. 138. 1910. — F. Stern, ebenda **68**. 52. 1910.

[2]) Staedeler, Ann. d. Chem. u. Pharm. **77**. 17. — J. Munk, Du Bois' Archiv 1880. Suppl. 23; Virchow's Archiv **131**. Suppl. 110. 1893. — C. Neuberg, Ztschr. f. physiol. Chem. **27**. 123. 1899. — W. Mooser, ebenda **63**. 176. 1909. — A. Kossler und E. Penny, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 139. 1892.

Digitized by Google

zwischen 0.25 und 0.77 g in den Bestimmungen Moosers. Im Harn eines mit Fleisch und Speck gefütterten Hundes fand Jonescu[1]) keine Phenole.

In Krankheiten vermehrt ist das Phenol nach E. Salkowski sowie nach L. Brieger bei Stauungen des Darminhalts, namentlich in den unteren Teilen des Dünndarms und im Dickdarm, bei Peritonitis, bei Eiterungen, besonders wenn der Eiter stinkend wird, bei Pyämie, nach Blendermann[2]) bei der Phosphorvergiftung. Indicanreicher Harn enthält auch zugleich viel Phenol, phenolreicher ist aber nicht immer reich an Indican.

Diese Tatsache ist wohl so zu erklären, dass nicht alle Bakterien, die bei der Zersetzung von Eiweiss Indol bilden, auch Phenol liefern (Lewandowski[3])).

Strasser erhielt mittelst des Verfahrens von Kossler und Penny in der Tagesmenge Harn bei schwerer Anämie, Phosphorvergiftung, Ileus, Cystitis, Lebercirrhose 36—50 mg, bei putrider Bronchitis 51, Peritonitis 56, lienaler Leukämie 62—81, Diabetes ohne Aceton 91, Gesichtserysipel 96, Nitrobenzolvergiftung 97, Pneumonie im Mittel aus 4 Beobachtungen 110 (68—188), Typhus während des Fiebers 142, 176 und 235, nach Ablauf des Fiebers 35—59, Pyopneumothorax 194, Gangrän des Fusses 261 mg. Bei Diabetes mit viel Aceton und Acetessigsäure wurden 287 (177—694) mg ermittelt; hier ist offenbar das Aceton mit bestimmt worden. — Russo fand bei der Untersuchung des Harns von 30 Kranken 225 mg als Maximum in der Tagesmenge. Bei Lebercirrhose ohne Icterus vermisste er, wohl wegen Unzulänglichkeit des Verfahrens, das Phenol vollständig, bei Lungentuberkulose war es nur spärlich oder gar nicht nachweisbar. Bei Erkrankungen des Darms war es nur bei gleichzeitiger Stauung des Darminhalts vermehrt. Bei Diabetes mellitus fand sich am meisten, bei Diabetes insipidus keins. — C. A. Herter und Wakeman[4]) erhielten bei Diabetikern Phenolmengen bis zu 0.79 g.

Bei der Beurteilung der angeführten Zahlen ist in Betracht zu ziehen, dass bei den Bestimmungen, die vor der Arbeit von Neuberg liegen, durch die Anwesenheit von Kohlehydraten zu hohe Werte gefunden sein können.

Im Harn der Neugeborenen finden sich keine oder nur wenig Phenole (Senator u. a.), weil bei ihnen der Darminhalt steril ist (Schild), ebensowenig im Harn von Tieren, deren Darm steril erhalten wurde (Nuttall und Thierfelder). Im Säuglingsharn fand L. F. Meyer[5]) bei Brustkindern 4.19 mg, bei künstlicher Ernährung 13.28 mg als Mittel in der Tagesmenge.

Lewin fand vermehrte Phenolausscheidung bei kachektischen Krebskranken und vermehrtem Eiweisszerfall infolge von Phloridzininjektionen. Auf Grund dieser Resultate tritt er dafür ein, dass Phenol auch im intermediären Stoffwechsel

[1]) E. Salkowski, ebenda 42. 213. 1904. — D. Jonescu, Biochem. Ztschr. 1. 403. 1906.

[2]) E. Salkowski, Ber. d. chem. Ges. 9. 1595. 1876 u. 10. 842. 1877. L. Brieger, Ztschr. f. physiol. Ch. 2. 241. 1878. — Blendermann, Ztschr. f. physiol. Ch. 6. 240. 1882.

[3]) A. Lewandowski, Deutsche med. Wochenschr. 51. 1186. 1890.

[4]) A. Strasser, Ztschr. f. klin. Med. 24. 543. 1894. — A. Russo, Rivista clin. e terap. October 1888; Centralbl. f. klin. Med. 10. 306. — C. A. Herter u. Wakeman in C. v. Noorden's Handb. d. Pathol. d. Stoffwechsels II. 111. Berlin 1907

[5]) H. Senator, Ztschr. f. physiol. Ch. 4. 1. 1879. — W. Schild, Ztschr. f. Hygiene 19. 113. 1895. — G. H. F. Nuttall u. H. Thierfelder, Ztschr. f. physiol. Ch. 21. 73. 1896. — L. F. Meyer, Monatsschr. f. Kinderheilkunde 4. 344. zit. n. Jahresb. f. Tierchem., 36. 632.

Digitized by Google

ohne Mitwirkung von Bakterien entstehen könne. P. Mayer und Scholz [1]) konnten im Tierversuch die Resultate Lewins nach Phloridzininjektion nicht bestätigen.

B. Eigenschaften. 1. Das reine Phenol krystallisiert in langen, farblosen Nadeln, schmilzt bei 43°, siedet bei 182—183°, löst sich schwer in kaltem Wasser, leicht in heissem, ist mit Alkohol und mit Äther in jedem Verhältnisse mischbar. Seine wässerige Lösung färbt Lackmus nicht, oder nur schwach rot. Es destilliert leicht mit Wasserdampf über.

Petroläther nimmt nach Jacobson[2]) beim Schütteln in der Kälte nur Spuren von Phenol auf, dagegen geht es reichlich in Äther, Essigäther, Benzol und Chloroform über. Die Benzol- und Ätherrückstände geben die schönsten Reaktionen; das Benzol verdient den Vorzug, weil es sich vollständig vom Wasser trennt.

2. Das Phenol löst sich leichter als in Wasser in Lösungen der Alkalihydrate und der Hydrate der alkalischen Erden und bildet mit diesen salzartige Verbindungen von stark alkalischer Reaktion.

Die Verbindungen werden durch Kohlensäure oder doppelt kohlensaure Salze unter Abscheidung des Phenols zersetzt. Die kohlensauren Alkalien werden vom Phenol nicht bei gewöhnlicher Temperatur, wohl aber in der Wärme unter Bindung des Phenols zerlegt (Baumann) [3]); einer in der Kälte mit kohlensaurem Alkali übersättigten Phenollösung lässt sich demnach das Phenol durch Äther entziehen, einer mit Alkalihydrat übersättigten dagegen nicht.

Durch Lösen von Bleioxyd in Phenol entsteht das Bleiphenolat $C_6H_6O \cdot PbO$, beim Fällen von Phenol mit Bleiessig die Verbindung $4\,C_6H_6O, 3\,PbO$ (s. Bestimmung des Phenols 1. b.)

3. Eine heissgesättigte Lösung von Pikrinsäure in 50%igem Alkohol gibt mit einer Lösung von Phenol in ebenso starkem Alkohol eine krystallinische Verbindung von $C_6H_5 \cdot OH, 2\,C_6H_2(NO_2)_3 \cdot OH$ (Goedike) [4]).

4. Das Phenol gibt eine Reihe von Reaktionen, von welchen die meisten für den Nachweis desselben gut verwendbar sind.

a) Salpetersaures Silber wird beim Kochen mit Phenol, auch bei Gegenwart von überschüssigem Ammoniak, nicht verändert; nach Zusatz von Kali- oder Natronlauge gibt jedoch die heisse Flüssigkeit einen schwarzen Niederschlag von metallischem Silber. — Salpetersaures Quecksilberoxyd wird durch Phenol nicht reduziert, ebensowenig Fehlingsche Flüssigkeit.

b) Phenollösungen werden auf Zusatz neutraler Eisenchloridlösungen intensiv blauviolett gefärbt.

Die Färbung wird durch viel überschüssiges Reagens, sowie schon durch Spuren von Säuren oder Ammoniak aufgehoben oder verhindert. Eine alkoholische oder mit Hilfe von Alkohol bereitete Phenollösung gibt die Reaktion nicht (Hesse), aber mässige Mengen Alkohol bringen die entstandene Blaufärbung nicht zum Verschwinden (Huppert). Salicylsäure gibt dieselbe Reaktion; eine mit Eisen-

[1]) C. Lewin, Hofmeisters Beiträge 1. 742. 1902. — P. Mayer, ebenda 2. 217. 1903. — H. Scholz, Ztschr. f. physiol. Ch. 38. 513. 1903.

[2]) W. Jacobson, Beitrag zum Nachweis des Phenols im Tierkörper. Diss Dorpat 1885; Ztschr f. analyt. Ch. 25. 607. 1886.

[3]) Baumann, Ber. d. chem. Gesellsch. 10. 686. 1877.

[4]) R. Goedike, Arch. des sciences biol. 2. 422. 1893.

Digitized by Google

chlorid violett gefärbte Salicylsäurelösung zeigt aber nach Krukenberg [1]) einen Absorptionsstreifen zwischen E und F, während eine ebensolche Phenollösung nur bei starker Konzentration und bei hellster Beleuchtung einen schwachen Streifen auf D erkennen lässt.

Weniger empfindlich gegen Säure ist die Blaufärbung, welche Phenolsulfosäure mit Eisenchlorid gibt (Raschig [2]).

c) Wird Phenolalkali in der Wärme mit Chloroform befeuchtet, so bildet sich sogleich ein roter, in verdünntem Alkohol mit carminroter Farbe löslicher Beschlag; die Reaktion wird noch mit Spuren von Phenol erhalten (Guareschi) [3]).

Resorcin gibt nach Lustgarten dieselbe Reaktion, Brenzkatechin und Hydrochinon dagegen nicht. — Nach Desesquelles färbt Resorcin rosa, Hydrochinon goldgelb, Kreosot violett, Thymol dunkelviolett, α-Naphtol himmelblau, β-Naphtol grünblau, Pyrogallol violett. Nach Lambert [4]) geben mit Jodoform Resorcin, Phloroglucin, Pyrogallol rosa oder rot, Orcin und Salicylsäure rotviolett, Guajacol und Thymol violett, Hydrochinon und die beiden Naphtole blau; das Jodoform lässt sich durch Chloroform oder Bromoform ersetzen. Die Färbungen verschwinden nach Zusatz von Säure, treten aber bei Zusatz von Alkali wieder auf.

d) Wird 1 ccm so schwache wässerige Phenollösung, dass sie sich kaum noch mit Eisenchlorid färbt, mit einigen Körnchen Paraoxybenzaldehyd (oder Salicylaldehyd) und dem gleichen Volumen konzentrierter Schwefelsäure versetzt, so erwärmt sie sich unter Bildung von Aurin; die gelbe Lösung wird beim Übersättigen mit Alkali schön rosa. Die Probe ist nicht so empfindlich wie die mit Brom (l.) (Nencki und Sieber) [5]).

e) Löst man ein Körnchen Phenol in 1 ccm Wasser, fügt 1 Tropfen 0,5%iges Furfurolwasser hinzu und lässt unter die Mischung 1 ccm konzentrierte Schwefelsäure fliessen, so färbt sich die Flüssigkeit kirschrot, später blau. Man hat durch Abkühlen dafür zu sorgen, dass die Temperatur der Mischung nicht über 50° steigt (v. Udránszky) [6]).

f) Mit Diazobenzolsulfonsäure färbt sich eine stark alkalische Phenollösung dunkelrot (Penzoldt und Fischer) [7]).

In alkalischer Lösung gibt Phenol und p-Diazonitranilin einen roten, in Wasser löslichen Diazokörper (Riegler) [8]):

$$C_6H_4.NO_2.N:N.Cl + C_6H_5.OH + 2\,NaOH = \\ C_6H_4.NO_2.N:N.C_6H_4.ONa + NaCl + 2\,H_2O.$$

Auf tropfenweisen Zusatz von verdünnter Schwefelsäure bis zur stark sauren Reaktion und tüchtiges Rühren scheidet sich ein gelber Körper $C_6H_4.NO_2.N:N.C_6H_4.OH$ aus, der in Wasser fast unlöslich ist und zur quantitativen Abscheidung dienen kann.

Zur Bereitung des p-Diazonitranilins bringt man in ein 200 ccm-Fläschchen 5 g p-Nitranilin, 25 ccm Wasser und 6 ccm reine konzentrierte Schwefelsäure,

[1]) O. Hesse, Ann. d. Chem. 182. 161. 1876. — Krukenberg, Verhandl. d. physik. med. Gesellsch. zu Würzburg, N. F. 18. 197. 1884.
[2]) F. Raschig, Ztschr. f. angew. Chem. 20. 2066. 1907.
[3]) Guareschi, Ber. d. chem. Gesellsch. 5. 1055. 1872.
[4]) S. Lustgarten, Monatshefte f. Chemie 3. 719. 1882. — E. Desesquelles, Comptes rendus de la Soc. de Biol. 1890. 101; Jahresber. f. Tierchem. 20. 180. — L. M. Lambert, L'Union pharmaceutique 33. 17; Ztschr. f. analyt. Ch. 32. 235.
[5]) Nencki u. Sieber, Journ. f. prakt. Chem. [2] 26. 25. 1882.
[6]) L. v. Udránszky, Ztschr. f. physiol. Ch. 12. 355. 1888.
[7]) F. Penzoldt u. E. Fischer, Berichte d. chem. Gesellsch. 16. 657. 1883.
[8]) Riegler, Chem. Centralbl. 1899. II. 322.

Digitized by Google

schüttelt, fügt 100 ccm Wasser und sofort 3 g Natriumnitrit, in 25 ccm Wasser gelöst, zu und füllt zu 500 ccm auf. Das Reagens wird filtriert und im Dunkeln aufgehoben.

g) Erwärmt man Phenollösung mit etwas gewöhnlicher (untersalpetersäurehaltiger) Salpetersäure, so färbt sich die Flüssigkeit unter Bildung von Pikrinsäure intensiv gelb, darauf beim Übersättigen mit Natronlauge braungelb. — Kreosot (Kreosol und Guajacol) verhält sich nach Saillet[1]) ebenso.

h) Fügt man nach Allen[2]) zu einigen Tropfen Salzsäure 1—2 Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit und dann einen Tropfen konzentrierter Salpetersäure, so färbt sich die Flüssigkeit alsbald kirschrot; gelindes Erwärmen unterstützt den Eintritt der Reaktion, Alkohol verhindert sie nicht. — Beim Übersättigen mit Natronlauge färbt sich die rote Flüssigkeit dunkelbraun.

Nach Cotton[3]) geht bei der Destillation eines normalen Harns mit $^1/_{20}$ seines Gewichts Salpetersäure ein Körper über, der sich beim Abkühlen als eine gelbe, in Äther lösliche Substanz ausscheidet, Phenol-Eigenschaften hat und mit Alkalien ein rotes krystallinisches Salz bildet.

i) Mischt man Phenollösung mit einigen Tropfen einer alkoholischen Lösung von Salpetrigsäure-Äthylester und dem gleichen Volumen konzentrierter Schwefelsäure, so tritt Rotfärbung ein. Schichtet man die Mischung auf die Schwefelsäure, so bildet sich ein roter Saum. Die Reaktion tritt noch bei 1 : 2000000 ein. Der Salpetrigsäure-Äther lässt sich nicht durch salpetrigsaures Kali ersetzen, wohl aber durch dieses und Alkohol, doch tritt, wenn die salpetrige Säure im Überschuss ist, leicht gelbliche Färbung ein (Eijkman)[4]).

k) Setzt man nach E. W. Davy[5]) in einer Porzellanschale 3—4 Tropfen Molybdänschwefelsäure (eine Lösung von 1 Teil Molybdänsäure in 10 oder mehr Teilen konzentrierter Schwefelsäure) zu 1—2 Tropfen Phenollösung, so tritt sogleich eine hellgelbe bis gelblichbraune Färbung ein, die durch eine kastanien- oder rotbraune in eine schön purpurfarbene übergeht; durch sehr gelindes Erwärmen wird die Reaktion beschleunigt. — In sehr verdünnten Phenollösungen entsteht erst eine dunkelolivengrüne, schnell blau werdende, aber keine purpurrote Färbung.

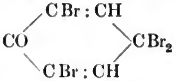
l) Versetzt man Phenollösung mit Bromwasser bis zu einer dauernden, leichten Gelbfärbung, so tritt nach Landolt[6]) ein gelblichweisser, flockiger, krystallinischer Niederschlag von Tribromphenol $C_6H_2Br_3 . OH$ auf. Bei einer Verdünnung von 1 : 40000 entsteht sofort noch Trübung, bei einer Verdünnung von 1 : 50000 nach einigen Stunden ein krystallinischer Niederschlag.

Nach Benedikt besteht der Niederschlag bei Verwendung eines starken Überschusses von Bromwasser aus Tribromphenol-Brom $C_6H_2Br_3 . OBr$; derselbe krystallisiert aus Bromwasser in

[1]) Saillet, Bull. gén. de thérap. 8. 1892; Jahresb. f. Tierch. 1893. 254.
[2]) Allen, Chem. Centralbl. 1879. 559.
[3]) S. Cotton, Journ. Pharm. Chim. [6] 10. 59. 1901. zit. n. Jahrb. f. Tierch. 31. 442.
[4]) J. F. Eijkman, Ztschr. f. anal. Ch. 22. 576. 1883.
[5]) E. W. Davy, Ztschr. f. anal. Ch. 18. 292. 1879.
[6]) H. Landolt, Ber. d. chem. Gesellsch. 4. 770. 1871.

Digitized by Google

citronengelben, glänzenden Plättchen, die bei 131°, bisweilen auch 133 bis 135°, unter Zersetzung schmelzen (Autenrieth und Beuttel), und zersetzt sich beim Kochen mit Alkohol zu Tribromphenol. Die Wägung des Niederschlags von Tribromphenolbrom **kann zur quantitativen** Bestimmung reiner Phenollösungen dienen (Autenrieth und Beuttel). Nach Thiele und Eichwede ist das Tribromphenolbrom ein substituiertes Chinon von der Formel



Durch Natriumamalgam lässt sich das Phenol aus dem Tribromphenol regenerieren. — Das Tribromphenol löst sich nach Rumpf [1]) in (10%iger) Sodalösung, das Tribromphenolbrom, wie es scheint, nicht. Neben diesen Verbindungen entstehen ausserdem braune Produkte.

Die Probe lässt sich nach Jacobson [2]) noch mit 1 Tropfen Phenollösung (mit 1 g Phenol in 40000) ausführen, wenn man die Flüssigkeit auf dem Objektträger Bromdämpfen aussetzt. Das Mikroskop weist die Krystalle nach.

Ausser dem Phenol geben noch manche andere Substanzen, die entweder im Harn vorkommen können oder zu Harnbestandteilen in Beziehung stehen, mit Bromwasser, wenn auch nicht immer krystallinische, Niederschläge, so das Kresol und die Paraoxybenzoesäure (beide Tribromphenol liefernd), die Salicylsäure (Dibromsalicylsäure), das Indol und Indican, die Kynurensäure, die Oxysäuren des Harns. — Im Harndestillat wird der Niederschlag nicht immer krystallinisch. Im Destillat von Hundeharn entsteht nach I. Munk mit Bromwasser nur selten ein Niederschlag. Häufiger aber, wenn man den Harn vor der Destillation alkalisch macht und eindampft.

m) Das Phenol gibt, wie nach O. Nasse alle Monohydroxyl-Benzolderivate, die Millonsche Reaktion. Dieselbe kann in verschiedenen Modifikationen angestellt werden. Die bei der Millonschen Reaktion entstehenden roten Verbindungen sind nach Dimroth [3]) wahrscheinlich metallorganische Oxyphenyl-Quecksilberverbindungen.

α) Man setzt vom Millonschen Reagens 5—10 Tropfen zu einer Phenollösung, kocht und tropft zu der heissen Flüssigkeit so viel Salpetersäure, bis der beim Kochen entstandene Niederschlag wieder verschwunden ist; die Flüssigkeit nimmt dabei eine schön rote Färbung an. Die Reaktion misslingt niemals, nur muss man einen grossen Überschuss von Salpetersäure vermeiden. Die Färbung ist sehr intensiv und hält sich mehrere Tage (Almén) [4]).

Zur Bereitung des Millonschen Reagens löst man nach Millon [5]) Quecksilber in dem gleichen Gewicht 63%iger Salpetersäure ($4\,HNO_3 + 3\,H_2O$) erst in der Kälte, dann unter gelindem Erwärmen, verdünnt 1 Vol. der Lösung mit 2 Vol.

[1]) R. Benedikt, Ber. d. chem. Gesellsch. **12**. 1005. 1880; Ann. d. Ch. **199**. 127. — W. Autenrieth u. F. Beuttel, Arch. der Pharmacie **248**. 112. zit. n. Chem. Zentr. 1910. I. 1646. — J. Thiele und H. Eichwede, Ber. d. chem. Ges. **33**. 673. 1900. — Rumpf, Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 239. 1892.

[2]) Jacobson, Ztschr. f. analyt. Ch. **25**. 607. 1886.

[3]) Dimroth, Ber. d. chem. Ges. **35**. 2856. 1902.

[4]) Aug. Almén, Ztschr. f. anal. Chem. **17**. 107. 1878.

[5]) Millon, Comptes rendus **28**. 40. 1889.

Verlag von J. F. Bergmann in Wiesbaden.

Soeben erschien:

Der Blutzucker

von

Dr. med. Ivar Bang
Privatdozent der medizinischen und physiologischen Chemie an der Universität Lund.

Mit 12 Abbildungen im Text.

Preis Mk. [illegible] — Gebunden Mk. [illegible]

Aus dem Inhalt:

Geschichte des Blutzuckers.

Die Bestimmung des Blutzuckers. A. Die Verarbeitung des Blutes auf Zucker. — B. Die Bestimmung des Blutzuckers.

Der physiologische Blutzuckergehalt bei den Tieren. A. Säugetiere. — B. Vögel. — C. Amphibien. — D. Reptilien. — E. Fische. — F. Insekten. — G. Dekapoden. — H. Zephalopoden. — I. Mollusken.

Die reduzierenden Stoffe des Blutes.

Die Verteilung der reduzierenden Stoffe im Blute.

Die physiologischen Schwankungen des Blutzuckers. A. Der Blutzuckergehalt der verschiedenen Gefässgebiete. — B. Physiologische Schwankungen des Gesamtblutzuckers.

Die experimentelle Hyperglykämie. A. Das Verhalten des Blutzuckers nach parenteraler Zuckerzufuhr. — B. Hyperglykämie bei experimenteller Adrenalinämie. — C. Hyperglykämie ohne Mitwirkung einer vermehrten Adrenalinsekretion bzw. ohne Mitwirkung des Adrenalins überhaupt.

Die experimentelle Hypoglykämie.

Hyperglykämie bei Krankheiten, abgesehen von Diabetes. 1. Krankheiten und Zustände mit erhöhtem Sympathikustonus. — a) Pathologische Zustände des Nervensystems. — b) Asphyxie. — c) Vergiftungen. — d) Nephritis. — Anhang. Karzinom. — 2. Morbus Basedowii und Akromegalie. — 3. Leberkrankheiten. — 4. Nierendiabetes.

Die Hyperglykämie bei Diabetes.

Der Ursprung des Blutzuckers.

Das Schicksal des Blutzuckers. Glykolyse. A. Die Umwandlungsprodukte des Blutzuckers. — B. Die Bedingungen der Glykolyse.

Verlag von J. F. Bergmann in Wiesbaden.

Physikalisch-chemische Untersuchungen

über

PHAGOZYTEN.

Ihre Bedeutung von allgemein biologischem und pathologischem Gesichtspunkt.

Von

Dr. chem. et med. **H. J. Hamburger.**

Professor der Physiologie an der Reichsuniversität Groningen.

Mit 4 Abbildungen im Text.

Preis Mk. 9.—, gebunden Mk. 10.20

Aus dem Vorwort.

Diese Schrift hat den Zweck, den grossen Wert der Phagozyten als Objekt für quantitative zellenbiologische Studien an einigen Beispielen klar zu legen und andere Fachgenossen zur Mitarbeit anzuregen. Und dabei denke ich nicht nur an Physiologen, sondern auch an die Vertreter der allgemeinen Pathologie, der Pharmakologie, der Balneologie, der Chirurgie und der inneren Medizin. Denn auch diese werden aus vorliegender Schrift ersehen, auf wie viel bekannte Tatsachen ihres Gebiets neues Licht fällt, und wie viele Fragen und Ausblicke sich in ihren Disziplinen wie von selbst eröffnet haben. So lässt sich erwarten, dass jeder auf seinem Gebiet Sachverständige, besser als ich, neue und zweifellos wichtigere Fragen wird streifen können.

I. Methodik.
II. Wasserzusatz.
III. Wasserentziehung.
IV. In welcher Weise wirken anisotonische Lösungen hemmend auf die Phagozytose, in negativ inotroper oder chronotroper?
V. Ist eine reine NaCl-Lösung ein Gift für die Phagozyten?
VI. Einfluss von Anionen, speziell von Halogenionen auf die Phagozytose.
VII. Anderweitige Anionen.
VIII. Verschiedenartige Kationen.
IX. Weiteres über das Calcium.
X. Einfluss anderweitiger Substanzen auf die Phagozytose.
XI. Einfluss von Jodoform auf die Phagozytose.
XII. Einfluss anderer lipoidlöslicher Substanzen auf die Phagozytose.
XIII. Inwieweit offenbaren sich die sub XI und XII an Phagozyten beobachteten Erscheinungen auch bei anderen Zellen.
XIV. Experimente über die Rolle des Teilungsgesetzes.
XV. Die günstige Wirkung von Calcium bei Schädigung von Zellen durch Chloroform.
XVI. Rückblick.

Druck der Kgl. Universitätsdruckerei H. Stürtz A. G., Würzburg.

Wasser und lässt den entstandenen Niederschlag sich absetzen. Die klare Lösung ist das Reagens.

β) Kocht man eine verdünnte Phenollösung mit einem Überschuss von salpetersaurem Quecksilberoxyd, so bleibt die Flüssigkeit entweder unverändert, oder es entsteht bei genügender Konzentration der Lösung ein weisser sandiger Niederschlag; fügt man darauf eine Lösung von salpetrigsaurem Kali hinzu, so färben sich Flüssigkeit und Niederschlag schön dunkelrot. Dieselbe Reaktion tritt ein, wenn man der Flüssigkeit schon vor dem Kochen das salpetrigsaure Kali zusetzt. Nach Armsby [1]) erfolgt die Reaktion auch in der Kälte nach einiger Zeit.

γ) Erhitzt man eine Phenollösung mit einer Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd, die eine Spur salpetriger Säure enthält, zum Kochen, so färbt sich die Flüssigkeit intensiv rot, bei konzentrierteren Lösungen unter Abscheidung von metallischem Quecksilber. Die Reaktion ist noch bei einer Verdünnung von 1:60000 sehr deutlich (Plugge) [2]).

n) Eine ammoniakalische Phenollösung färbt sich auf Zusatz eines unterchlorigsauren Salzes wie das Anilin schön blau (Berthelot) [3]).

Die Reaktion gelingt nicht leicht. Man darf nur so viel unterchlorigsaures Salz (Lösung von 1 Teil Chlorkalk in 20 Teilen Wasser) hinzufügen, dass nicht alles Ammoniak zersetzt wird. Die Flüssigkeit ist anfangs grün, wird aber dann schnell blau; gelindes Erwärmen beschleunigt die Reaktion. Beim Ansäuern wird die Flüssigkeit rot, bei darauf folgendem Übersättigen mit Ammoniak wieder blau. — Brom gibt nach Cotton [4]) diese Reaktion noch besser, als unterchlorigsaures Salz. Zweckmässig fügt man zur wässerigen, schwach ammoniakalisch gemachten, zum Sieden erhitzten Lösung frisches Bromwasser.

Der entstehende blaue Farbstoff wird als Indophenol bezeichnet. Raschig [5]) erklärt die Reaktion, indem er die intermediäre Bildung von Monochloramin bzw. Monobromamin und als Zwischenprodukte p-Aminophenol und Dioxydphenylamin annimmt:

$$C_6H_5OH \rightarrow NH_2 . C_6H_4 . OH \rightarrow HO . C_6H_4 . NH . C_6H_4 . OH \rightarrow HO . C_6H_4 . N \underline{. C_6H_4 . O}.$$

o) Versetzt man nach E. Jacquemin [6]) eine Phenollösung mit (der gleichen Menge) Anilin und darauf mit unterchlorigsaurem Natron, so entsteht erythrocarbolsaures Natron, welches eine blaue Farbe besitzt. Säuren färben die Flüssigkeit rot, Alkalien wieder blau.

Behandelt man Anilin mit Chlorwasser oder unterchlorigsaurem Salz und versetzt man das Filtrat mit überschüssigem Ammoniak, so erhält man nach Cotton eine braune Flüssigkeit, welche auf Zusatz von Phenol blau wird. — Jacobson [7]) führt die Probe in folgender Weise aus. Es werden 3 Tropfen farbloses Anilin in 50 ccm Wasser gelöst und davon 5—10 Tropfen in einem halben Reagenzglas Wasser mit einer Natriumhypochloritlösung vermischt, welche man durch Verreiben gleicher Teile Chlorkalk und kohlensauren Natrons mit etwas Wasser und Filtrieren erhält. Von dieser Mischung setzt man so lang zu der ammoniakalischen Probe hinzu, bis sie deutlich violett oder braungelb geworden ist. Bei Gegenwart von Phenol geht die Färbung in grün oder blau über.

[1]) H. P. Armsby, Landwirtsch. Versuchsstationen **25**. 471. 1880.
[2]) P. C. Plugge, Ztschr. f. analyt. Chem. **11**. 173. 1872.
[3]) Berthelot, Chem. Centralbl. 1859. 463.
[4]) Cotton, Bull. de la Soc. chim. [2] **21**. 8. 1874.
[5]) F. Raschig: Ztschr. f. angew. Chem. **20**. 2069. 1907.
[6]) E. Jacquemin, Comptes rendus **76**. 1605; Ztschr. f. anal. Ch. **15**. 367. 1876.
[7]) Jacobson, a. a. O.

Digitized by Google

Die Reaktion tritt nach Denigès [1]) noch ein, wenn man eine Lösung von 40 g Phenol und 5 g Anilin in 1 Ltr. mit einer Spur Hypochlorit versetzt; sie ist nach Jacquemin viel empfindlicher als b, tritt aber nach Almén nicht immer ein.

Mehrere dieser Reaktionen sind nach ihrer Schärfe untereinander verglichen worden. Nach Almén ist die empfindlichste die mit Millons Reagens (m) in Modifikation α, sie zeigt das Phenol noch in zweimillionenfacher Verdünnung an; minder empfindlich ist die Modifikation β, sie lässt das Phenol noch bei einer Verdünnung von 1: 200000 erkennen. Auf diese folgt die Reaktion mit Bromwasser (l, 1: 60000), die mit unterchlorigsaurem Natron (n und o, 1: 50000), die Reaktion von Plugge (m γ, 1: 15000) und die Eisenreaktion (b, 1: 3000).

Eine ähnliche Vergleichung stellte E. Pollucci [2]) an. Er erhielt die Landoltsche Reaktion (l) noch bei einer Verdünnung von 1: 15000, die Gelbfärbung mit Salpetersäure (g) noch bei 1: 6000, die mit Chlorkalk und Ammoniak (n) bei 1: 3000, die mit Eisenchlorid (b) bei 1: 2000.

p) Phenol gibt nach Messinger und Vortmann [3]) beim Erwärmen mit Jod und Natronlauge auf 50—60° einen dunkelroten, amorphen Niederschlag von Trijodphenol.

Die Reaktion geht auch in der Kälte vor sich, vollzieht sich aber dann nur sehr langsam. Zur vollständigen Überführung des Phenols in Trijodphenol ist ein ziemlich grosser Überschuss an Jod erforderlich (Kossler und Penny [4]). Durch Thiosulfat wird das Trijodphenol nicht zerlegt.

5. Erhitzt man Phenol mit der vierfachen Menge Pyridin und der molekularen Gewichtsmenge Diphenylharnstoffchlorid im Kölbchen mit Steigerohr eine Stunde lang in siedendem Wasser und giesst die Lösung unter Umrühren in Wasser, so scheidet sich ein rötlicher, mehr oder weniger verschmierter Krystallbrei aus, der sich nach Abgiessen des Wassers und oberflächlichem Trocknen aus Ligroin umkrystallisieren lässt. Er besteht aus Phenol-diphenylurethan; die Krystalle erweichen bei 102° und schmelzen zwischen 104—105°.

$C_6H_5.OH + Cl.OC—N(C_6H_5)_2 = C_6H_5—O.CO.N(C_6H_5)_2 + HCl$ (J. Herzog [5]).

6. Phenol (1,1 g) mit α-Napthylisocyanat (1,7 g) in trockenem Glase gelinde erwärmt, gibt nach 12 stündigem Stehen lange Spiesse von Phenyl-α-naphthylurethan $C_{10}H_7NH.CO.OC_6H_5$. Man löst in viel kochendem Ligroin und filtriert vom Dinaphthylharnstoff ab; aus dem Ligroin krystallisiert das Urethan, das bei 133° erweicht, bei 136—137° schmilzt (Neuberg und Hirschberg) [6]).

7. Mit salpetriger Säure entwickelt das Phenol nach Kreusler eine nicht unerhebliche Menge Stickstoff. — Eine alkalische Permanganatlösung wird nach Baeyer [7]) durch Phenol augenblicklich reduziert.

8. Physiologisches Verhalten: Von verabreichtem Phenol verschwinden beim Hunde, je nach der Grösse der Gabe, 42—70%

[1]) Denigès, Bull. de la Soc. chim. [3] **5**. 66.
[2]) E. Polluci, Ber. d. chem. Gesellsch. **9**. 360. 1874.
[3]) J. Messinger u. G. Vortmann, Ber. d. chem. Gesellsch. **22**. 2313. 1889.
[4]) A. Kossler u. E. Penny, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 122. 1892.
[5]) J. Herzog, Ber. d. chem. Gesellsch. **40**. 1831. 1907.
[6]) C. Neuberg u. E. Hirschberg, Biochem. Ztschr. **27**. 341. 1910.
[7]) U. Kreusler, Landwirtschaftl. Versuchsstationen **31**. 309. 1885. — Baeyer, Ann. d. Ch. **246**. 149.

Digitized by Google

nach Auerbach, $^1/_2$—$^3/_4$ nach Marfori, beim Pferd 41—54% (J. Munk)[1]).

C. Nachweis. Direkt im Harn lässt sich das Phenol mit keiner der Phenolreaktionen nachweisen, trotz ihrer grossen Empfindlichkeit; es ist vielmehr das Phenol im Harn erst aus den gepaarten Verbindungen abzuscheiden und dann abzudestillieren.

Zu diesem Zwecke wird Harn (1 l) mit soviel Schwefelsäure versetzt, dass er 5% H_2SO_4 enthält und so lange destilliert, bis sich das Destillat mit Bromwasser nicht mehr trübt, oder sich bei der Millonschen Reaktion nicht mehr rosenrot färbt, wobei allerdings nach Kossler und Penny nicht alles Phenol gewonnen wird. Mit dem Destillat lassen sich ohne weiteres Reaktionen anstellen. Um das gewonnene Phenol (Kresol) in konzentriertere Lösung zu bringen und zugleich etwa vorhandene Salicylsäure, welche die Reaktionen beeinträchtigen würde, zu entfernen, sättigt man das Destillat in der Kälte mit kohlensaurem Natron und schüttelt es wiederholt mit Äther aus. Die abgehobenen Ätherportionen vereinigt man und lässt sie bei gewöhnlicher Temperatur verdunsten. Baumann[2]) reinigt das Phenol in der Weise, dass er das Destillat mit Äther ausschüttelt, den Äther abdestilliert, den Rückstand mit überschüssiger Kalilauge kocht, um flüchtige, stickstoffhaltige Substanzen zu entfernen, die Flüssigkeit ansäuert, wieder mit Äther ausschüttelt und den Äther verdunstet.

Nach Vergiftung mit sehr grossen Gaben Phenol ist ein Teil desselben auch als solches und als Phenolalkali im Harn enthalten und kann schon durch Destillieren des Harns mit Essigsäure gewonnen werden (Reale). — Um die Ausbeute an Phenol zu erhöhen, empfiehlt es sich, nach Munk, den Harn vor der Destillation bei alkalischer Reaktion auf $^1/_5$ einzudampfen. — Die unterjodige Säure (B. 4. p.) ist kein geeignetes Reagens, weil es mit Aceton, welches im Destillat, namentlich reichlich bei Gegenwart von Acetessigsäure, enthalten sein kann, einen (gelben) Niederschlag von Jodoform gibt; ein ähnlicher Niederschlag entsteht nach Salkowski und Taniguti[3]) auch mit einer aldehydartigen Substanz, welche im Destillat auftritt, wenn man den Harn mit Schwefelsäure zu weit einkocht.

Einige der Phenolreaktionen fallen mit denen des Kresols zusammen, so das Verhalten gegen Brom und gegen Salpetersäure; wie weit die Ähnlichkeit reicht, ist nicht für alle Reaktionen bekannt. Unzweifelhaft ist es aber, dass das Kresol vielfach mit dem Phenol verwechselt worden ist. Eine Trennung des Phenols vom Kresol ist von Brieger[4]) durch fraktionierte Destillation vieler hundert Liter Menschenharn und von Baumann durch Überführen der Phenole in ihre Sulfonsäuren bewerkstelligt worden (vgl. Kresol, Nachweis).

D. Bestimmung s. S. 784 ff.

[1]) A. Auerbach, Virchows Arch. 77. 226. 1879. — P. Marfori, Arch. di Farmac. e Terap. 2. 1894. zit. n. Jahresber. f. Tierch. 24. 98. — I. Munk, Du Bois' Arch. 1881. 460.

[2]) Kossler u. Penny, a. a. O. 135. — Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. 6. 186. 1882.

[3]) E. Reale, Gaz. delle cliniche 1890; Zentralbl. f. klin. Med. 12. 487; Jahresb. f. Tierch. 1891. 401. — I. Munk, Du Bois Archiv 1880. Suppl. 27. — E. Salkowski u. Ken Taniguti, Ztschr. f. physiol. Ch. 14. 476. 1890. — Salkowski, Pflügers Archiv 56. 339. 1894.

[4]) Brieger, Ztschr. f. physiol. Chem. 4. 206. 1870.

Digitized by Google

Anhang.

1. Phenolschwefelsäure.

$$C_6H_5 . O . SO_3H.$$

Wird gepulvertes, pyroschwefelsaures Kalium mit überschüssigem Phenolkalium in konzentrierter, wässeriger Lösung längere Zeit auf 60—70° erhalten, so bildet sich nach Baumann[1]) phenolschwefelsaures Kali:

$$C_6H_5 . OK + K_2S_2O_7 = C_6H_5 . O . SO_2 . OK + K_2SO_4.$$

Das Salz bildet farblose, glänzende, sich fettig anfühlende Plättchen, löst sich leicht in Wasser, sehr schwer in kaltem, leichter in heissem Alkohol. Im Gegensatz zu dem ihm isomeren phenolsulfonsauren Kali färbt es sich mit Eisenchlorid nicht. Beim Aufbewahren an feuchter Luft zersetzt sich das Salz sehr langsam, beim Erhitzen mit Wasser über 100° in einigen Stunden in Phenol und saures schwefelsaures Kali:

$$C_6H_5 . O . SO_2 . OK + H_2O = C_6H_5 . OH + KHSO_4.$$

Dieselbe Zersetzung erleidet es, wenn eine wässerige Lösung desselben in der Kälte mit einer starken Mineralsäure vermischt wird; beim Erwärmen mit verdünnter Salzsäure (selbst 0,1%ige, Szabó[2]) wird es schon in wenig Minuten vollkommen zerlegt. Verdünnte Essigsäure bewirkt diese Zersetzung erst bei längerem Kochen allmählich; das im Harn enthaltene phenolschwefelsaure Salz wird durch einstündiges Erwärmen mit verdünnter Essigsäure nicht zersetzt. Auch durch Kochen mit saurem schwefelsaurem Kali wird es zersetzt. Dagegen widersteht es der Einwirkung der Fäulnis und der der Alkalilaugen; es kann selbst mit konzentrierter Kalilauge ohne Zersetzung gekocht werden.

Das lufttrockene Salz beginnt sich schon unter 100° zu zersetzen; bei 150—160° verwandelt es sich vollständig in das isomere paraphenolsulfonsaure Kali: $HO.C_6H_4.SO_2.OK$.

Im Gegensatz zum Kalisalz ist das Natronsalz leicht zersetzlich; es zersetzt sich schon beim Verdampfen seiner wässerigen Lösung auf dem Wasserbad. In trockenem Zustand nimmt es begierig Feuchtigkeit auf und lässt sich nur kurze Zeit unzersetzt aufbewahren. Bei ungefähr 130° geht das trockene Salz in paraphenolsulfonsaures über.

Mit Barytsalzen gibt die Phenolschwefelsäure bzw. ihre Salze keine Fällung.

Die Phenolschwefelsäure ist von Baumann als Kalisalz aus dem Pferdeharn dargestellt worden[3]); doch lässt sie sich hier nur

[1]) Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. 6. 186. 1882.
[2]) D. Szabó, Ztschr. f. physiol. Ch. 1. 140. 1877.
[3]) Baumann, Pflügers Archiv 13. 289; Ztschr. f. physiol. Chem. 2. 335. 1879.

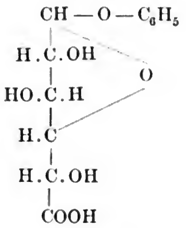
Digitized by Google

schwer frei von Kresolschwefelsäure gewinnen; rein erhält man sie dagegen aus dem Harn von Menschen oder Hunden, welche mit Phenol behandelt wurden.

Man verdunstet nach Baumann[1]) 8—10 l Harn von Hunden, denen täglich mehrere Gramm Phenol beigebracht wurden, zum Syrup, extrahiert den Rückstand mit 96%igem Alkohol, fällt die abfiltrierte Lösung in der Kälte mit einer Lösung von Oxalsäure in Alkohol vollständig aus, filtriert sogleich und setzt Kalihydrat bis zur schwach alkalischen Reaktion zu. Es wird alsdann wieder filtriert, die Flüssigkeit zum Syrup verdunstet und dieser in der Kälte stehen gelassen oder der Einwirkung einer Kältemischung ausgesetzt, wobei er zu einem Brei von Krystallplättchen erstarrt. Diese werden auf dem Vacuumfilter von der Mutterlauge befreit und aus siedendem Alkohol umkrystallisiert.

2. Phenolglycuronsäure.

$C_{12}H_{14}O_7$.

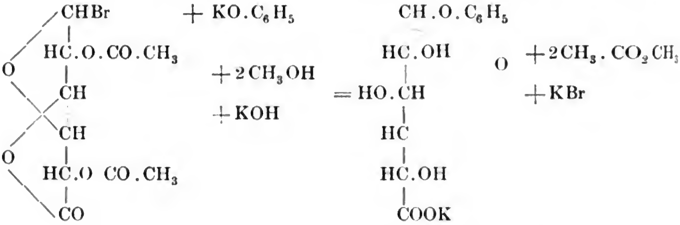


Phenolglycuronsäure ist von Neuberg und Neimann[2]) synthetisch dargestellt worden:

16 g Acetobromglycuronsäurelacton, das aus krystallisiertem Glycuronsäurelacton und Acetylbromid erhalten wird, und 3,18 g Phenol werden in 150 ccm Methylalkohol gelöst und mit einer Lösung von 1,5 g Kalium in 20 ccm Methylalkohol versetzt. Die Flüssigkeit färbt sich bald gelb und scheidet Bromkalium ab; Geruch nach Essigester tritt auf. Nach 3 Wochen filtriert man die bis dahin verschlossen und im Dunkeln aufbewahrte Lösung und verdunstet sie bei gewöhnlicher Temperatur. Den sirupösen Rückstand löst man in wenig Wasser, leitet zur Zersetzung von noch vorhandenem Phenolkalium Kohlensäure ein und extrahiert das Phenol mit Petroläther. Die vom Phenol befreite Lösung dampft man ein, versetzt mit sehr verdünnter (höchstens 5%iger) Schwefelsäure bis zur deutlich sauren Reaktion und extrahiert mit einem Gemisch von 2 Vol. Äther und 1 Vol. Alkohol 5—6 mal. Die Auszüge werden bei höchstens 40° zu einem Sirup verdunstet, der innerhalb 48 Stunden zu einem Krystallbrei erstarrt. Dieser wird nach dem Abpressen auf Ton durch Krystallisation aus heissem Wasser unter Zusatz von Knochenkohle rein erhalten.

[1]) Baumann, Pflügers Archiv 13. 294; Ztschr. f. physiol. Chem. 2. 336.
[2]) C. Neuberg u. W. Neimann, Ztschr. f. physiol. Chem. 44. 114. 1905.

Digitized by Google



A. Vorkommen. Die Anwesenheit von Phenolglycuronsäure im normalen Menschenharn ist durch Neuberg und P. Mayer wahrscheinlich gemacht worden. Aus dem Harn eines mit Cocain vergifteten Menschen isolierte Wohlgemuth das Brucinsalz einer Säure, dessen Analyse auf phenol- oder kresolglycuronsaures Brucin stimmte. Külz[1]) hat die Säure aus dem Harn von Kaninchen, die Phenol zum Futter erhalten hatten, rein dargestellt.

Die Identität der synthetischen Verbindung und der im Harn vorkommenden haben Salkowski und Neuberg[2]) festgestellt.

B. Eigenschaften. Die Säure löst sich leicht in heissem Alkohol und heissem Essigäther, weniger in Äther, nicht in Ligroin. Beim längeren Stehen im Tageslichte färbt sich die feste Substanz wie die wässerige Lösung schwach rosa. Sie krystallisiert in farblosen, undurchsichtigen, langen Nadeln vom Schmelzpunkte 150—151° (148°, Külz); $[\alpha]_D^{17°} = -83{,}3°$.

Die Salze sind sämtlich wasserlöslich bis auf die Bleiverbindung, die durch Bleiessig aus der freien Säure wie aus deren Salzen gefällt wird. Auch Alkaloidsalze, wie das Brucinsalz, sind relativ schwer löslich, besitzen gutes Krystallisationsvermögen und eignen sich deshalb zur Isolierung.

Durch Kochen mit Säuren wird die Verbindung in Phenol und Glycuronsäure gespalten, sie reduziert alkalische Kupferlösung erst nach der Spaltung. Kefirlactase und Emulsin, nicht aber Hefemaltase hydrolysieren die Verbindung langsam und partiell.

C. Darstellung. Am bequemsten erhält man die Säure nach Salkowski und Neuberg aus Hammelharn, nach Fütterung von

[1]) C. Neuberg u. P. Mayer, Ztschr. f. physiol. Chem. **29**. 256. 1900. — J. Wohlgemuth, Berliner klin. Wochenschr. 1904. 1084. — E. Külz, Ztschr. f. Biologie **27**. 248. 1890.

[2]) E. Salkowski u. C. Neuberg, Biochem. Ztschr. **2**. 307. 1906/7.

Digitized by Google

5 g Phenol täglich. Portionen von 10 Liter Harn wurden mit gepulvertem normalem Bleiacetat so lange geschüttelt, bis alle dadurch fällbaren Verbindungen niedergeschlagen waren. Das wasserklare Filtrat wurde mit Bleiessig ausgefällt, der Niederschlag nach gründlichem Waschen unter sorgfältigem Verreiben mit Schwefelammonium in gelinder Wärme zersetzt. Das Filtrat vom Bleisulfid wurde auf dem Wasserbade eingedampft und verwandelte sich nach einigen Tagen in einen Krystallbrei. Dieser wurde mit dem dreifachen Volum Wasser übergossen, gründlich durchgerührt und vom Schwerlöslichen (Benzoesäure und Hippursäure) abgesaugt. Das Filtrat wurde zur eben beginnenden Krystallisation eingeengt und mit kalt gesättigter Bleizuckerlösung versetzt. Vom Niederschlag wurde filtriert, das Filtrat mit Bleiessig gefällt. Das Bleisalz wurde abfiltriert, ausgewaschen, mit Schwefelwasserstoff zersetzt. Aus dem Filtrat vom Schwefelblei krystallisierte beim Einengen die Säure, die nach einmaligem Umkrystallisieren aus heissem Wasser rein war.

Wohlgemuth[1]) fällte den Harn sukzessive mit Bleiacetat, Bleiessig und Bleiessig mit Ammoniak; die beiden letzten Fällungen enthielten, wie die Orcinreaktion des zersetzten Bleiniederschlags zeigte, gepaarte Glycuronsäure. Der Bleiessigniederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt, vom Schwefelblei filtriert, das Filtrat zum dünnen Sirup im Vacuum eingeengt. Die Lösung wurde mit Brucin behandelt, das überschüssige Brucin mit Äther ausgeschüttelt und die Lösung eingeengt. Da das auskrystallisierte weisse Salz noch mit Phosphaten und Sulfaten verunreinigt war, wurde es mit Barythydrat zersetzt und der überschüssige Baryt mit Kohlensäure gefällt. Das Filtrat vom Baryumcarbonat wurde wieder mit Brucin behandelt, vom überschüssigen Brucin mit Äther befreit und eingeengt. Das Brucinsalz schied sich zunächst amorph aus, wurde aber durch einmaliges Umkrystallisieren bzw. Verdunsten der wässerigen Lösung in langen glänzenden Krystallen vom Schmelzpunkt 189^0 erhalten.

D. Nachweis: s. bei „Gepaarte Glycuronsäuren" im Kapitel „Körperfremde Stoffe".

II. Kresol.

$CH_3 . C_6H_4 . OH.$

A. Vorkommen. Kresol macht den Hauptbestandteil der im Menschen- und Pflanzenfresser-Harn enthaltenen Phenole aus. Nach Mooser kommt sogar im Kuhharn Phenol selbst gar nicht vor

[1]) Wohlgemuth, a. a. O. 1085.

und von den Menschenharnen, die Mooser untersuchte, lieferte nur einer, der von einem Vegetarianer stammte, viel Phenol. Von den drei isomeren Kresolen ist bisher nur das p-Kresol im Harndestillat mit Sicherheit nachgewiesen. Die Annahme, dass vielleicht auch geringe Mengen o-Kresol darin vorkämen, stützt sich auf den Befund von Brieger, dass man bei der Kalischmelze der Harnphenole neben viel p-Oxybenzoesäure auch etwas Salicylsäure erhält. Da aber Baumann gezeigt hat, dass mit organischen Substanzen verunreinigtes Phenol, das frei von o-Kresol ist, schon in kleinen Mengen beim Schmelzen mit Kali nachweisbare Mengen Salicylsäure liefert, so ist der Schluss auf das Vorkommen von o-Kresol im Harndestillate unberechtigt. Ebensowenig ist das Vorkommen von m-Kresol im Destillat des Pferdeharns dadurch bewiesen, dass Preusse[1]) bei der Kalischmelze des Phenolgemenges eine Säure erhielt, die er nach Entstehung und Eigenschaften für m-Oxybenzoesäure ansprach.

Das Kresol ist zuerst von Staedeler aus Kuhharn erhalten und Taurylsäure genannt worden, daneben erhielt er ein „schwach gelb gefärbtes, stickstoffhaltiges Öl von durchdringendem Geruch", dem Mooser[2]) in neuerer Zeit seine Aufmerksamkeit wieder zugewandt hat. Er erhielt durch Petroläther-Extraktion aus der alkalischen Kresollösung ein dem Kresol isomeres öliges, stickstofffreies Produkt, dem er den Namen Urogon (s. u.) gab.

B. Eigenschaften. I. 1. Das Parakresol (1,4) bildet eine weisse, krystallinische Masse von phenolartigem, an faulen Harn erinnernden Geruch, schmilzt bei 35—36°, siedet bei 197—199°, löst sich schwer in Wasser, leicht in Alkohol und in Äther. Wie das Phenol und die beiden anderen Kresole verflüchtigt es sich leicht mit Wasserdämpfen.

2. Es verbindet sich, wie das Phenol, mit Basen; in Barytwasser ist es schwerer löslich als das Phenol. Seine wässerige Lösung färbt sich mit Eisenchlorid schön blau.

3. Beim Erwärmen mit konzentrierter Schwefelsäure bildet es u. a. Kresolmetasulfonsäure $\left.\begin{matrix}HO\\CH_3\end{matrix}\right\} C_6H_3.SO_2.OH$, deren Eisenoxydsalz eine violette Farbe besitzt; sie ist ferner durch ein selbst in kochendem Wasser schwer lösliches, in feinen Nadeln krystallisierendes, basisches Barytsalz, $C_7H_6SO_4Ba + 2\,H_2O$, ausgezeichnet.

[1]) W. Mooser, Ztschr. f. physiol. Chem. **63**. 155. 1909. — L. Brieger, Ztschr. f. physiol. Chem. **4**. 205. 1880. — E. Baumann, ebenda **3**. 252. 1879. — C. Preusse, ebenda **2**. 355. 1878.

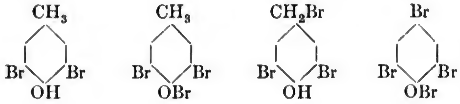
[2]) G. Städeler, Liebigs Ann. d. Chem. **77**. 17. 1851. — W. Mooser, a. a. O. 183.

Digitized by Google

4. Eine heiss gesättigte Lösung von Pikrinsäure in 50%igem Alkohol gibt mit einer alkoholischen Parakresollösung nach Goedike[1]) keinen Niederschlag.

5. Eine wässerige Parakresollösung gibt mit überschüssigem Bromwasser im Gegensatz zum Phenol nur langsam eine Trübung.

Nach Autenrieth und Beuttel[2]) können unter der Einwirkung des überschüssigen Broms vier verschiedene Substanzen entstehen, nämlich 3,5-Dibrom-p-Kresol (I), 3,5-Dibrom-p-Kresolbrom (II), 3,5-Dibrom-p-Oxybenzylbromid (III) und schliesslich Tribromphenolbrom (IV).



I II III IV.

Versetzt man eine wässerige p-Kresollösung mit Bromwasser bis zur Gelb- oder schwachen Rotfärbung und lässt das Gemisch unter häufigem Umschütteln nur 3—4 Stunden stehen, so erhält man einen Niederschlag, der aus den Verbindungen I und II besteht. Lässt man aber einen grossen Überschuss von gesättigtem Bromwasser 3—4—8 Tage einwirken, so besteht der Niederschlag aus fast reinem Tribromphenolbrom. Aber eine quantitative Überführung des Kresols in dieses Produkt scheint nicht möglich zu sein. Deshalb kann die früher verwandte gewichts-analytische Bestimmung der Phenole im Harn, die auf Wägung des Niederschlags mit Bromwasser im Harndestillate beruhte, nicht auf Exaktheit Anspruch machen.

Nach Siegfried u. Zimmermann[3]) entsteht bei Einwirkung von Brom ein unlösliches Tribromkresol, das durch Zusatz von Jodkalium unter bestimmten Bedingungen quantitativ in lösliches Dibromkresol übergeführt werden kann.

Weiteres s. bei Bestimmungsmethoden S. 788.

6. Mit Salpetersäure färbt sich das Parakresol gelb.

7. Versetzt man eine wässerige Parakresollösung mit Nitroprussidnatrium und Kalilauge, so wird die Flüssigkeit rotgelb, beim Übersättigen mit Essigsäure hellrosarot (v. Jaksch)[4]).

8. Bei der Furfurolreaktion (s. Phenol B. 4. e.) färbt sich p-Kresol hellrot, später violett, schliesslich blau (v. Udránszky).

[1]) R. Goedike, Arch. des sc. biol. **2**. 422. 1893.
[2]) W. Autenrieth u. F. Beuttel, Arch. d. Pharmacie **248**. 114. 1910, dort Lit.
[3]) M. Siegfried u. R. Zimmermann, Biochem. Ztschr. **29**. 368. 1910. dort Lit.
[4]) v. Jaksch, Ztschr. f. klin. Med. 8. 130. 1884.

Digitized by Google

9. Bei der Probe von Jacquemin (s. Phenol B. 4. o) gibt p-Kresol keine Blaufärbung, ebensowenig bei der Reaktion von Cotton (s. Phenol B. 4. n). Die Reaktionen können zur Unterscheidung der beiden Homologen verwandt werden.

10. Beim Schmelzen mit Kali wird es zu p-Oxybenzoesäure oxydiert.

11. p-Kresol-diphenylurethan wird dargestellt wie das entsprechende Phenolderivat (s. Phenol B. 5). Es schmilzt bei 93—94° (Herzog).

12. p-Kresol (1,2 g) mit α-Naphthylcyanat (1,7 g) ganz kurz in trockenem Glas erhitzt, gibt tafelförmige Blättchen von p-Kresol-α-naphthylurethan $C_{10}H_7NH.CO.OC_6H_4.CH_3$, die, zweimal aus absolutem Alkohol umkrystallisiert, bei 120° erweichen, bei 150—151° schmelzen (Neuberg und Hirschberg)[1]).

13. Physiologisches Verhalten: Nach Baumann und Preusse wird p-Kresol vom Hunde in geringer Menge zu p-Oxybenzoesäure bzw. Phenol oxydiert, der grössere Teil wird als gepaarte Schwefel- und Glycuronsäure ausgeschieden. Jonescu[2]) fand 23—27% des verabreichten Kresols als „Phenole" wieder.

C. Nachweis. Bei der Untersuchung kleiner Mengen Harn ist ein Nachweis des Kresols neben dem Phenol nicht durchführbar; die beim Nachweis des „Phenols" aus dem Harn isolierte Substanz besteht ihrer Hauptmenge nach aus Kresol. Eine sichere Erkennung des Kresols neben dem Phenol lässt sich erreichen durch Überführen der Phenole in ihre Sulfonsäuren, von welchen das Barytsalz der Parasäure in Barytwasser unlöslich ist (Baumann), oder so, dass man die flüchtigen Phenole des Harns durch Schmelzen mit Kalihydrat in Oxybenzoesäuren überführt, wozu allerdings grössere Mengen der Phenole erforderlich sind. Nach beiden Methoden lassen sich auch isomere Kresole nebeneinander nachweisen.

Zur Darstellung der Sulfonsäure werden nach Baumann[3]) die Phenole mit dem gleichen Gewichte konzentrierter Schwefelsäure eine Stunde lang auf dem Wasserbade erwärmt, die Mischung nach dem Verdünnen mit Baryt neutralisiert, das Filtrat bis nahe zur Krystallisation verdampft und mit konzentriertem Barytwasser versetzt. Der Niederschlag besteht aus basischem p-kresolsulfonsauren Baryt, in Lösung befindet sich das phenolsulfonsaure und das o-kresolsulfonsaure Salz (s. oben unter A) neben einem Rest des p-kresolsulfonsauren Salzes, das durch Wiederholen des Verfahrens vollends abgeschieden wird.

Will man die Kresole als Oxybenzoesäuren nachweisen, so wird nach dem Schmelzen der Phenole mit Kalihydrat die Masse in Wasser gelöst, mit Schwefelsäure angesäuert, filtriert, das Filtrat in der Kälte mit kohlensaurem Natron alkalisch gemacht und das Phenol sowie das der Reaktion entgangene Kresol durch Schütteln mit Äther entfernt. Die bleibende wässerige Lösung dampft man ein und destilliert sie mit überschüssiger Salzsäure, wobei die entstandene Salicylsäure übergeht. Dem Destillationsrückstand entzieht man die in ihm noch enthaltenen Säuren mit Äther, verdunstet die ätherische Lösung und wäscht aus ihr einen Rest Salicylsäure mit Chloroform aus, wobei Paraoxybenzoesäure zurückbleibt (Preusse)[4]).

[1]) C. Neuberg u. E. Hirschberg, Biochem. Ztschr. 27. 342. 1910.
[2]) D. Jonescu, Biochem. Ztschr. 1. 399. 1906; dort Lit.
[3]) E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Chem. 6. 185. 1882.
[4]) Preusse, ebenda 2. 355.

Digitized by Google

Um das Fehlen ansehnlicher Mengen von Phenol in einer Lösung p-Kresol festzustellen, liesse sich die Reaktion von Jacquemin (B. 9.) benutzen.

Arnold und Werner[1]) empfehlen zur Unterscheidung von Phenol und Kresol folgende Reaktion: Zu 10 ccm der wässerigen Lösung setzt man je 10 ccm Alkalilauge und Alkohol und einen Tropfen Anilin und schüttelt tüchtig, dann setzt man 5—6 Tropfen Wasserstoffsuperoxyd und nach wiederholtem Schütteln 10—12 Tropfen Natriumhypochloritlösung zu. Phenol gibt hierbei eine vorübergehende, schmutzig rote, rasch in Gelb übergehende Färbung, p-Kresol gibt eine vorübergehende violettrote Färbung, die rasch verschwindet.

D. Darstellung. Über die Darstellung von Kresol aus grossen Mengen Kuhharn siehe bei „Urogon" (S. 783).

Anhang.

1. p-Kresolschwefelsäure.

$C_6H_4(CH_3) . O . SO_3H$.

Das p-kresolschwefelsaure Kalium wird ebenso wie das phenolschwefelsaure Salz (s. S. 775) synthetisch gewonnen. Es ist äusserlich kaum von diesem zu unterscheiden und verhält sich ebenso gegen Säuren, Wasser und Alkalien; nur löst es sich schwerer in Wasser und in Alkohol, zersetzt sich schneller beim Aufbewahren und widersteht der Fäulnis nicht so energisch. Mit Eisenchlorid färbt es sich nicht. Bei 140—150^0 verwandelt es sich in Kresolsulfonsäure (Baumann). In alkalischer Lösung wird die p-Kresolschwefelsäure nach Heymann und Koenigs[2]) durch Permanganat zu p-Oxybenzoesäure oxydiert.

Die Kresolschwefelsäure lässt sich am besten aus Pferdeharn gewinnen, und zwar nach demselben Verfahren, wie die Phenolschwefelsäure. Ein kürzeres Verfahren, bei welchem ein zwar nicht ganz reines, aber doch vorwiegend aus parakresolschwefelsaurem Kali bestehendes Salz erzielt wird, hat Brieger[3]) angegeben.

Frischer Harn wird nacheinander mit Bleizucker und Bleiessig ausgefällt, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff behandelt, die Flüssigkeit im Wasserbad zum Sirup eingedampft und einige Zeit im Vacuum stehen gelassen. Das Salz krystallisiert dabei in Plättchen aus, die wiederholt aus viel heissem absoluten Alkohol umkrystallisiert werden müssen. Für die quantitative Bestimmung ist das Verfahren nicht geeignet, da im Bleiessigniederschlag ein Teil der Säure verloren geht.

[1]) C. Arnold u. G. Werner, Apotheker-Zeitung **20**. 925. 1905.

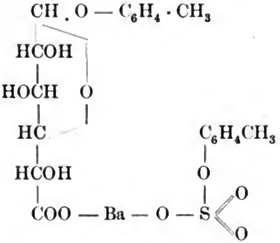
[2]) Baumann, Ztschr. f. physiol. Chem. **2**. 340. 1879. — B. Heymann und W. Königs, Ber. d. chem. Gesellsch. **19**. 704. 1886.

[3]) L. Brieger, Ztschr. f. physiol. Chem. 8. 311. 1884.

2. p-Kresolglycuronsäure.

Die Säure ist synthetisch bisher nicht dargestellt. Sie kommt im normalen Harn wohl neben Phenolglycuronsäure (s. S. 775) vor. Ob in der von Wohlgemuth isolierten Säure ein Gemisch beider Homologen oder eines von beiden vorlag, ist unentschieden.

Aus dem Harn von Hunden, die 50 g p-Kresol in Tagesdosen von 1 g erhalten hatten, isolierten Neuberg und Kretschmer[1]) auf folgende Weise ein gemischtes Bariumsalz der Kresolglycuronsäure und Kresolschwefelsäure von der Formel $C_{20}H_{22}O_{11}SBa + H_2O$, dem wohl die Zusammensetzung



zukommt.

Der Urin wurde mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht und auf dem Wasserbade auf ein Volum von etwa 3 Liter eingedampft. Der braun gefärbte, von auskrystallisierten Salzen abgegossene Harn wurde mit 100 g in Wasser gelöster krystallisierter Phosphorsäure angesäuert und 6 mal mit einem Gemisch aus 2 Teilen Äther und 1 Teil Alkohol ausgeschüttelt; nach Zusatz von weiteren 50 g Phosphorsäure wurden nochmals 6 Ausschüttelungen vorgenommen. Die sorgfältig abgetrennten Ätherauszüge wurden durch trockne Filter filtriert und nach Zusatz von gefälltem Bariumcarbonat auf dem Wasserbad abdestilliert. Das Stossen der Flüssigkeit wurde durch eingelegte Holzstäbchen vermieden. Die vereinigten Destillationsrückstände wurden durch Eindampfen in einer Emailschale unter Zusatz von etwas Wasser vom noch vorhandenen Alkohol befreit. Nach dem Erkalten erstarrte der Schaleninhalt zu einem Krystallbrei, der mit mehreren Litern Wasser ausgekocht und siedend vom Bariumcarbonat abfiltriert wurde. Die bei dem Eindampfen ausgeschiedenen Krystallkrusten, die sich beim Stehen noch vermehrten, wurden abgesaugt, mit kaltem Wasser gewaschen und aus heissem Wasser unter Zusatz von etwas Knochenkohle umkrystallisiert.

[1]) C. Neuberg u. E. Kretschmer, Biochem. Zeitschr. **36. 15. 1911.**

Digitized by Google

Das Salz krystallisiert in perlmutterglänzenden Blättchen. Die spezifische Drehung beträgt —34,55°. Die Lösung des Salzes reduziert Fehlingsche Lösung nicht, nach Spaltung mit Salzsäure reduziert sie schon in der Kälte, gleichzeitig scheidet sie Bariumsulfat ab. Sie gibt die Tollenssche Naphthoresorcinreaktion, die Orcinreaktion erst nach langem Kochen; mit konzentrierter warmer Salzsäure färbt sie sich grün; der Farbstoff geht mit grüner Farbe in Amylalkohol, mit violetter in Äther.

3. Urogon (Mooser)[1].

C_7H_8O.

Mooser erhielt bei der Verarbeitung von ca. 3000 Liter frischem Kuhharn auf Phenole das „Urogon" genannte Öl auf folgende Weise.

Der Harn wurde portionsweise zu je 500 g mit 25 ccm konzentrierter Schwefelsäure angesäuert und destilliert, bis im letzten Destillate keine Millonsche Reaktion mehr auftrat. Die vereinigten Destillate wurden mit Calciumcarbonat alkalisch gemacht und im Kohlensäurestrom nochmals destilliert. Die Destillate wurden mit Kalilauge leicht alkalisch gemacht und durch eine erstmalige Ausschüttelung mit reinstem Petroläther im Scheidetrichter die Hauptmenge des Öls daraus gewonnen. Die wässerige alkalische Lösung wurde auf dem Wasserbade konzentriert und im Extraktionsapparat erschöpfend mit Petroläther extrahiert, dann mit Schwefelsäure angesäuert und wieder mit Petroläther extrahiert, bis die wässerige Lösung keine Millonsche Reaktion mehr gab. Nach dem Abdunsten des Petrolätherextrakts aus saurer Lösung blieb ein braunschwarzer Rückstand, der, bei 15 mm Druck destilliert, konstant zwischen 133—134° überging. Das farblose, lichtbrechende, dickflüssige Öl erwies sich durch den Siedepunkt (in vier Fraktionen zwischen 198,5—203° und die Analyse als reines p-Kresol und liess sich durch schnelles Abkühlen mit fester Kohlensäure in schönen Krystallen erhalten.

Das mit dem Kresol isomere Öl siedet bei 199,5° (korr.), hat das spezifische Gewicht 1,0201 bei 15°, den Brechungsexponent 1,5289 bei 24° und hat den charakteristischen Geruch des faulen Kuhharns. In Wasser ist es unlöslich, in Alkohol, Äther, Petroläther, Benzol, Aceton und Eisessig leicht löslich. In Alkalien ist es zunächst unlöslich, doch verschwindet die milchige Suspension beim Erhitzen unter Entwickelung eines an Cymol erinnernden Geruchs. Millons Reagens färbt die kleinsten Spuren primelrot.

Beim Erhitzen des Öls zunächst mit 5%iger Kalilauge am Rückflusskühler, dann des Reaktionsprodukts mit Kalilauge 1 : 1 im Einschlussrohr bei Wasserbadtemperatur bildet das Öl einen Urogen genannten Kohlenwasserstoff von der wahrscheinlichen Zusammensetzung $C_{21}H_{42}$ und ein Urogol genanntes Phenol, dessen Analyse wieder annähernd die Zusammensetzung des Kresols zeigt, und dessen Eigenschaften nur wenig von denen des p-Kresols abweichen.

Die Beziehungen des Urogons zum Kresol, namentlich die Frage, ob es sich nicht nur um ein verunreinigtes Kresol handelt, bedürfen noch der weiteren Untersuchung.

Bei längerem Stehen des Harns soll sich nach Mooser das Urogon teilweise in ein Phenol (Urogol?) umwandeln. So sollen sich Differenzen bei der Phenolbestimmung im frischen Kuhharn und in solchem, der 4 Wochen gestanden hat, erklären.

[1]) W. Mooser, Ztschr. f. physiol. Ch. 63. 183. 1909.

Digitized by Google

Bestimmung des Phenols und Kresols.

1. Gemeinsame Bestimmung des Phenols und p-Kresols.

a) Methode von Messinger und Vortmann in der Ausführung von Kossler und Penny[1]).

A. Prinzip. Das Verfahren beruht darauf, dass nach den Ermittelungen von Kossler und Penny unter bestimmten Bedingungen durch Hypojodit das Phenol in Trijodphenol, das Kresol in Trijodkresol übergeführt wird. Zur Bildung des Trijodphenols sind auf 1 Mol. Phenol mehr als 3 Mol. Hypojodit und 3 Mol. freies Jod und zur Bildung von Trijodkresol mehr als 7 Mol. Hypojodit und 10,75 Mol. freies Jod erforderlich, oder 1 ccm 0,1 normal Jodlösung auf 3 mg Phenol oder 1 mg Parakresol, und die nötige Menge Lauge. Die Reaktion vollzieht sich langsam in der Kälte. Die Phenole werden in verdünnter Natronlauge gelöst und die erwärmte Flüssigkeit mit der nach der Menge Lauge berechneten Menge Jod versetzt. Dann wird angesäuert, wobei wie S. 255 dargetan, alles zur Bildung des Produkts nicht verbrauchte Jod frei wird, und dieses mit Natriumthiosulfat zurücktitriert.

B. Erfordernisse.

1. Zehntelnormal-Jodlösung. Von dieser zeigt 1 ccm 1,567 mg Phenol oder 1,8018 mg Kresol an.

2. Eine auf die Jodlösung gestellte Natriumthiosulfatlösung. Beide wie S. 256.

3. Nitritfreie Zehntelnormal-Natronlauge.

4. Stärkelösung.

C. Ausführung. Die Phenole werden aus dem mit Schwefelsäure angesäuerten Harn abdestilliert. Dabei können ausserdem in das Destillat übergehen Aceton, Ameisensäure und salpetrige Säure, von welchen Aceton und Ameisensäure Jod binden, die salpetrige Säure aus Jodkalium Jod frei macht. Ferner können flüchtige aldehydartige Substanzen, welche gleichfalls Jod binden, nach Salkowski und Ken Taniguti[2]) entstehen, wenn der Harn mit der Schwefelsäure stark eingedampft wird. Das Ammoniak, welches beim Kochen normalen Harns entweicht, wird zurückgehalten, wenn der Harn mit einer genügenden Menge Schwefelsäure versetzt worden ist. Die durch die fremden Substanzen verursachten Fehler lassen sich aber vermeiden, wenn man zur Gewinnung der Phenole aus dem Harn in folgender Weise verfährt.

[1]) J. Messinger u. G. Vortmann, Ber. d. chem. Gesellsch. **23**. 2753. 1890. — A. Kossler u. E. Penny, Ztschr. f. physiol. Chem. **17**. 117. 1892.

[2]) Ken Taniguti, Ztschr. f. physiol. Chem. **14**. 746. 1890. — E. Salkowski, Pflügers Archiv **56**. 339. 1894.

Digitized by Google

Man dampft 500 ccm Harn bei schwach alkalischer Reaktion in einer Schale auf dem Wasserbad auf ein Fünftel ein, wobei das Aceton entweicht. Den Rückstand bringt man durch Zusatz von Wasser wieder auf das ursprüngliche Volumen, setzt auf 100 ccm 5 ccm konzentrierte Schwefelsäure zu und destilliert am absteigenden Kühler die Hälfte ab. Man ersetzt die abdestillierte Flüssigkeit durch Wasser und wiederholt die Destillation noch einige Male immer unter Ergänzung des ursprünglichen Volumens. Die Vorlagen können während der Destillation offen sein, ohne dass man Phenol verliert. Die ersten 2 oder 3 Destillate fängt man zusammen auf, die folgenden jedes für sich. Man kann nicht durch Reaktionen erfahren, ob man schon alles Phenol abdestilliert hat, weil diese nicht empfindlich genug sind, sondern erfährt das erst durch die quantitative Bestimmung. Nach unveröffentlichten Versuchen von Holland kann die Destillation wesentlich abgekürzt werden, wenn man den angesäuerten Harn kalt mit Natriumsulfat halb sättigt. Die Ameisensäure und die salpetrige Säure entfernt man durch Schütteln der Destillate mit kohlensaurem Kalk bis zum Verschwinden der sauren Reaktion. Die Flüssigkeit destilliert man vom Kalkcarbonat ab und verwendet das bei der ersten Portion rückständige Salz zum Neutralisieren der folgenden. Das Destillat wird jetzt in Flaschen mit eingeriebenen Stopfen aufgefangen.

Die Destillate werden mit einer abgemessenen Menge der Zehntelnormallauge stark alkalisch gemacht (wozu für das erste Destillat aus normalem Harn 20 ccm genügen), durch Eintauchen in Wasser von 60° erwärmt und sogleich mit 10—15 ccm mehr Zehntelnormal-Jodlösung versetzt, als man Lauge genommen hat. Nach dem Erkalten spült man das sublimierte Jod mit der Flüssigkeit von der Wand der Flasche ab, säuert an und titriert das übrig gebliebene Jod mit der Thiosulfatlösung zurück, in der Art, wie bei der Bestimmung des Acetons S. 259.

Die Flüssigkeit enthält die jodierten Phenole als roten Niederschlag, erscheint also bei gleichzeitiger Gegenwart von Jodstärke violett. Der Farbenumschlag von Violett in Rot, der mit der Wegnahme der letzten Spur freien Jods eintritt, ist aber scharf zu erkennen.

b) Modifikation von Neuberg[1]).

Neuberg stellte fest, dass bei Anwesenheit von Kohlehydraten oder andren Substanzen, die beim Erhitzen mit Säuren flüchtige, jodbindende Substanzen geben (Salkowski), die Phenolwerte nach Kossler-Penny viel zu hoch ausfallen, weil diese flüchtigen Spaltungsprodukte als Phenole mitbestimmt werden.

[1]) C. Neuberg, Ztschr. f. physiol. Chem. 27. 123. 1899.

Digitized by Google

Er empfiehlt deshalb folgende Modifikation, die bei Anwesenheit reduzierender Substanzen notwendig erscheint:

Das über Calciumcarbonat rektifizierte Gemenge der Phenole und der aus den Kohlehydraten entstandenen jodbindenden Produkte wird in einem 2 Liter-Kolben mit einer Auflösung von 1 g Ätznatron und 6 g festem Bleizucker versetzt und etwa 15 Minuten auf einem lebhaft siedenden Wasserbad erhitzt. Hierbei löst sich ein Teil des Bleioxyds in den Phenolen zu basischen Bleiphenolaten, während die leicht flüchtigen Aldehyde entweichen. Zur vollständigen Entfernung der letzteren erhitzt man den Kolbeninhalt noch kurze Zeit am absteigenden Kühler auf freier Flamme, bis wenige Kubikzentimeter des übergehenden Destillats ammoniakalisch-alkalische Silberlösung nicht mehr reduzieren, was gewöhnlich nach etwa 5 Minuten der Fall ist. Unnötig langes Erhitzen ist zu vermeiden, da bei anhaltender Erwärmung die Bleiphenolate in ihre Komponenten zerfallen.

Hierauf wird die Flüssigkeit mit Schwefelsäure stark angesäuert und abermals destilliert. Das Destillat wird nach Kossler und Penny weiter behandelt, d. h. alkalisch gemacht, mit Jodlösung versetzt usw.

Bei zuckerhaltigen Hundeharnen versagt nach meinen Erfahrungen die Methode zuweilen, da es nicht gelingt, alle aldehydartigen, Silberlösung reduzierenden Substanzen aus der alkalischen Lösung abzudestillieren, ohne dass Phenole mit übergehen. Für den Kuhharn haben Liechti und Mooser Verluste von etwa 50% des vorhandenen Kresols festgestellt, wenn sie zuvor das ganze Furfurol abdestillierten, und ähnliche Verluste erhielt M. Hensel[1]) bei zuckerhaltigem Menschenharn nach Neubergs Methode.

c) Modifikation von Mooser.

Mooser gelangte bei der Prüfung des Verfahrens von Kossler und Penny mit reinen Phenol- und Kresollösungen zu dem Schlusse, dass dabei ein Verlust von Phenol und Kresol entsteht. Er fand weiter, dass bei der Destillation reiner Kresollösungen mit Schwefelsäure nicht alles Kresol aus dem Destillat wieder zu gewinnen ist. Er destillierte deshalb zur Abscheidung der Phenole den Harn mit Phosphorsäure und nahm die zweite Destillation mit Calciumcarbonat in einem Kohlensäurestrom vor. Auf diese Weise wurden bei reinen Lösungen von Phenol und Kresol genaue Werte durch Titration des Destillats erhalten. Nach Mooser werden bei der Destillation von Kresollösungen mit Phosphorsäure auch bei Zusatz von Traubenzucker die Resultate

[1]) P. Liechti und W. Mooser, Zeitschr. f. physiol. Chem. **73**. 365. 1911. — M. Hensel, ebenda, 78. 373. 1912.

Digitized by Google

nicht beeinflusst. Diese Tatsache wird indes von Neuberg und Hildesheimer bestritten[1]). Sie sahen bei der Destillation von reinem Traubenzucker mit Phosphorsäure jodbindende Substanzen ins Destillat übergehen. Liechti und Mooser haben sich in erneuten Versuchen von der Berechtigung dieser Einwände nicht überzeugen können, ebenso fand M. Hensel, dass bei genauem Einhalten der Mooserschen Versuchsbedingungen Zuckerzusatz das Resultat nicht beeinträchtigt.

Als Nachteil der Destillation mit Schwefelsäure führt Mooser an, dass aus dem Kuhharn bei fortgesetzter Destillation mit der Säure auch das „gelbe Öl" ins Destillat geht, das von den Phenolen verschieden ist.

Das Verfahren von Mooser gestaltet sich wie folgt:

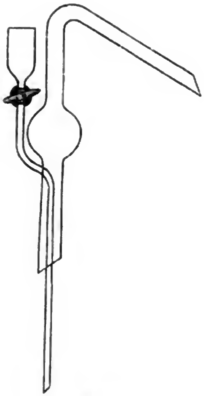


Fig. 40.

Eine abgemessene, schwach alkalisch gemachte Menge Harn (250—500 ccm) wird auf dem Wasserbad auf ca. $^1/_5$ eingedampft, in den Destillationskolben gespült und dieser mit dem Kühler verbunden. Durch den hier (Fig. 40) abgebildeten Hahntrichter, der zugleich als Destillationsaufsatz dient, lässt man unter zeitweiligem Umschütteln soviel sirupöse Phosphorsäure (Gehalt an P_2O_5 65,03%, entspr. 96,86% H_3PO_4 in den Versuchen von Mooser) langsam zufliessen, dass deren Menge ca. 5% des ursprünglichen Harnvolums ausmacht. Unter guter Kühlung wird alsdann bis auf ca. 100 ccm abdestilliert und die Destillation nach jeweiligem Nachfüllen von 50 ccm Wasser so lange wiederholt, bis die Prüfung einiger Tropfen des Destillats mit Millons Reagens negativ ausfällt. Die in einem geräumigen Kolben aufgefangenen Destillate werden nach Übersättigen mit kohlensaurem Kalk unter Einleiten eines reinen Kohlensäurestromes einer erneuten Destillation unterworfen und diese ebenfalls wiederholt, bis das Destillat keine Millonsche Reaktion mehr gibt. Das Destillat wird nach Kossler-Penny titriert, wobei zu beachten ist, dass infolge der im Destillate enthaltenen Kohlensäure die Menge der zuzusetzenden Natronlauge entsprechend vermehrt werden muss.

[1]) W. Mooser, Ztschr. f. physiol. Chem. 63. 161. 1909. — C. Neuberg und A. Hildesheimer, Biochem. Ztschr. 28. 525. 1910.

Digitized by Google

d) Ausschüttelungs-Verfahren von Ellinger-Hensel[1]).

A. Prinzip. Das nach c) erhaltene Destillat des mit Phosphorsäure versetzten Harns wird erschöpfend mit Äther ausgeschüttelt, die Ätherlösung durch Schütteln mit $NaHCO_3$-Lösung zunächst von flüchtigen Säuren befreit, dann so lange mit verdünnter Natronlauge geschüttelt, bis die Phenole vollständig in die Lauge übergegangen sind. In der alkalischen Lösung werden nach Neutralisation der Hauptmenge der freien Lauge durch Schwefelsäure die Phenole nach Kossler und Penny titriert.

B. Ausführung. 500 ccm Harn werden schwach alkalisch gemacht und auf dem Wasserbade auf ungefähr 100 ccm abgedampft, in den Destillationskolben gespült (mit Spülwasser ungefähr 150 bis bis 200 ccm) und 25 ccm sirupöse Phosphorsäure dazu gebracht (spez. Gew. 1,7 entspr. 84,7% H_3PO_4). Am absteigenden Kühler wird abdestilliert bis auf 100 ccm, jeweils 50 ccm H_2O nachgefüllt und so oft destilliert, bis die Millonsche Probe negativ ausfällt. Die Zahl der notwendigen Destillationen ist sehr verschieden (6—20). Soweit also wird genau nach Moosers Vorschrift verfahren. Das Destillat wird 4 mal mit etwa $^1/_5$—$^1/_4$ seines Volumens Äther, der durch 5 maliges Ausschütteln mit verdünnter Natronlauge gereinigt ist, ausgeschüttelt, die Ätherlösung sodann erst 4 mal mit 4%iger $NaHCO_3$-Lösung und schliesslich 4 mal mit annähernd $n/_1$-NaOH-Lösung. Die NaOH wird in der phenolhaltigen alkalischen Lösung soweit neutralisiert, dass ihre Alkaleszenz 20 ccm $n/_{10}$ NaOH entspricht. Waren z. B. 250 ccm $n/_1$-NaOH verbraucht, so werden 248 ccm $n/_1$-H_2SO_4 zugesetzt. In der alkalischen Lösung werden durch Titration nach Kossler und Penny die Phenole bestimmt.

Die Methode wurde durch Kontrollbestimmungen mit reinen Phenollösungen und an Harnen mit Phenolzusatz — auch bei Anwesenheit von Kohlehydraten — geprüft und brauchbar gefunden. Die Werte stimmen mit den nach Methode c) erhaltenen gut überein. Sie führt durch Fortfall der Destillation über Calciumcarbonat schneller zum Ziele als die Moosersche, erfordert aber etwas mehr manuelle Arbeit.

2. Getrennte Bestimmung von Phenol und p-Kresol nach Siegfried und Zimmermann[2]).

Die getrennte Bestimmung von Phenol und p-Kresol in dem nach Neuberg oder Mooser erhaltenen Harndestillate knüpft an die

[1]) M. Hensel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 78. 373. 1912.
[2]) M. Siegfried u. R. Zimmermann, Biochem. Ztschr. 29. 368. 1910; dort Lit. u. 34. 462. 1911.

Digitized by Google

Bestimmungsmethoden von Koppeschaar und Keppler an, die für Phenol allein sehr brauchbare Resultate liefert, für Gemenge mit Kresol aber nicht anwendbar ist.

Über das Destillationsverfahren von Siegfried und Zimmermann und seine Fehlerquellen siehe unter C.

A. Prinzip. I. Es wird die Menge Brom ermittelt, die das Phenol und das Kresol zusammen verbrauchen, indem aus ersterem Tribromphenol, aus letzterem Tribromkresol entsteht (b_1). Dies kann entweder geschehen durch eine Bestimmung nach Kossler-Penny und Umrechnung des verabreichten Jods auf Brom oder genauer mittels der modifizierten Methode Koppeschaar-Keppler.

Im letzteren Falle wird dem Phenolgemenge eine titrierte Kaliumbromatbromid-Mischung zugesetzt, die mit Salzsäure ein bestimmtes Quantum Brom entwickelt.

$$5\,KBr + KBrO_3 + 6\,HCl = 3\,Br_2 + 6\,KCl + 3\,H_2O.$$

Unter den sub C angegebenen Bedingungen wird das p-Kresol quantitativ in Tribromkresol übergeführt, das Phenol in Tribromphenol. Das nicht gebundene Brom wird ermittelt, indem Jodkaliumlösung zugefügt wird. Dann wird eine dem nicht gebundenen Brom äquivalente Menge Jod frei, die durch Titration mit Natriumthiosulfat zu ermitteln ist.

Da Tribromkresol aber durch Jodkalium in Dibromkresol übergeführt wird, so muss es vor dem Jodkaliumzusatz durch Filtration entfernt werden (s. Kresol B. 5.).

II. In einer zweiten Bestimmung wird diejenige Menge Brom (b_2) ermittelt, die nötig ist, um durch Einwirkung von Brom und nachherigen Zusatz von Jodkalium das Kresol in Dibromkresol, das Phenol in Tribromphenol überzuführen.

Die Berechnung geschieht in folgender Weise:

x sei die gesuchte Menge Kresol, y die gesuchte Menge Phenol.

Molekulargewicht des Kresols = 108,06
Molekulargewicht des Phenols = 94,05
Atomgewicht des Broms = 79,92.

$b_1 - b_2$ ist die Menge Brom, die von dem vorhandenen Kresol (x) nach der Bestimmung II weniger verbraucht wird als nach der Bestimmung I. Diese Menge beträgt

für 1 Mol. Kresol 2 Atome, denn

$$C_7H_8O + 3\,Br_2 = C_7H_5Br_3O + 3\,HBr$$
$$C_7H_8O + 2\,Br_2 = C_7H_6Br_2O + 2\,HBr.$$

Digitized by Google

Also ist:

$$[I] \qquad \frac{x}{108,06} = \frac{b_1 - b_2}{159,84}$$

oder:

$$x = \frac{108,06\,(b_1 - b_2)}{159,84} = 0,67605\,(b_1 - b_2)$$

Die Brommenge, die der unbekannten Menge Phenol (y) entspricht, wird durch die Differenz der in der ersten Bestimmung ermittelten Brommenge b_1 und der dem Kresol (x) entsprechenden Menge Brom erhalten, d. i. $\frac{x.\,479,52}{108,06}$.

Die gesuchte Menge Phenol (y) verhält sich zu dieser Brommenge wie das Molekulargewicht des Phenols (94,05) zu dem Gewicht von 6 Atomen Brom (479,52).

Denn:

$$C_6H_6O + 3\,Br_2 = C_6H_3Br_3O + 3\,HBr.$$

Also:

$$[II] \qquad \frac{y}{b_1 - x.\frac{479,52}{108,06}} = \frac{94,05}{479,52}$$

Setzt man x aus Gleichung (I) ein, so ist

$$y = \left(b_1 - \frac{0,67605\,[b_1 - b_2]\,479,52}{108,06}\right) . \frac{94,05}{47,952}$$

$$y = b_1\,.\,0,19613 - (b_1 - b_2)\,0,5854$$

$$y = b_2\,.\,0,5884 - b_1\,.\,0,3923.$$

B. Erfordernisse.

1. $n/_{10}$-Natriumthiosulfatlösung.

2. Kaliumbromatbromidlösung, im Liter 0,384 g Kaliumbromat und 2,97 g Kaliumbromid enthaltend. Der Titer wird folgendermassen bestimmt: In einer verschliessbaren Flasche von ca. 250 ccm Inhalt werden 100 ccm der Lösung mit 10 ccm 25%iger Salzsäure und mit 15 ccm 5%iger Jodkaliumlösung vermischt. Das freie Jod wird mit $n/_{10}$-Thiosulfatlösung titriert, wobei die Stärkelösung erst gegen Ende der Reaktion zugefügt wird, d. h. wenn die Flüssigkeit nur noch gelb gefärbt ist. 1 ccm $n/_{10}$ Thiosulfatlösung = 7,992 mg Brom.

3. 5%ige Jodkaliumlösung, die nach Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure Stärkelösung nicht bläuen darf.

4. Stärkelösung aus löslicher Stärke bereitet.

5. Schwefelsäure, aus gleichem Volum Wasser und konzentrierter Schwefelsäure bereitet.

6. ca. 25%ige Salzsäure.

Digitized by Google

C. Ausführung.

a) Destillation der Phenole in Dampfstrom.

Der mit Natronlauge bis zur schwach alkalischen Reaktion versetzte Harn wird in einer Schale auf dem Wasserbad bis auf etwa $^1/_5$ des ursprünglichen Volumens eingedampft und in den Destillationskolben übergeführt. Dieser ist durch einen dreifach durchbohrten Gummistopfen ausser mit dem Destillationsrohr und dem den Wasserdampf zuleitenden Rohre mit einem Hahntrichter versehen, durch den bei den folgenden Manipulationen sowohl die Schwefelsäure als das in Wasser aufgeschwemmte Natriumbicarbonat eingeführt wird. Auf diese Weise soll ein Verlust an Phenolen durch Verdampfen oder Mitfortgerissenwerden durch Kohlensäurebläschen vermieden werden. Durch den Hahntrichter wird die abgekühlte Mischung von gleichen Teilen konzentrierter Schwefelsäure und Wasser (pro Liter Harn je 100 ccm des Gemisches) zugefügt; es wird mit Wasserdämpfen unter gleichzeitiger Erhitzung des Destillationskolbens so lange (bzw. länger) destilliert, bis das Destillat die Millonsche Reaktion nicht mehr gibt.

Dieses Destillat wird im Kolben mit 30—40 g in Wasser aufgeschlemmten Natriumbicarbonats durch den Hahntrichter vermischt und unter Durchleiten eines Kohlensäurestroms, den man vorteilhaft schon durch den Wasserdampf-Entwickler führt, wieder bis zum Versagen der Millonschen Reaktion oder länger destilliert. Dieses Destillat wird nach Neuberg (s. S. 785) mit der Mischung der wässerigen Lösungen von 1 g Natronhydrat und 6 g Bleiacetat (pro Liter Harn) im Kolben versetzt, auf einem siedenden Wasserbade 15 Minuten stehen gelassen, dann, bis alkalisch-ammoniakalische Silbernitratlösung nicht mehr reduziert wird, abdestilliert. Hierauf wird mit Schwefelsäure (1:1) durch den Hahntrichter stark angesäuert und mit Wasserdämpfen bis zum Versagen der Millonschen Reaktion destilliert. Das Destillat wird mit einem grossen Überschusse von Natronlauge auf dem Wasserbade eingeengt, im Messkolben auf 200 ccm aufgefüllt und darin, wie unter b) beschrieben, die Grösse b_1 und b_2 bestimmt.

Siegfried und Zimmermann haben zwar durch Kontrollversuche festgestellt, dass nach ihrer Methode der Destillation im Wasserdampfstrom zuerst unter Schwefelsäurezusatz, dann unter Zusatz von $NaHCO_3$ und Einleiten von CO_2 Phenole quantitativ in das Destillat übergehen. Aber die Fehler der Neubergschen Modifikation, die Mooser und Hensel aufgedeckt haben, dürften auch seinem Verfahren anhaften. Deshalb scheint es mir nötig, so lange nicht durch erneute Kontrollversuche Klarheit geschaffen ist, auch für die getrennte Bestimmung des Phenols und Kreosols das nach Moosers Vorschrift (s. S. 786) gewonnene Destillat zu verwenden.

Digitized by Google

b) Titration der Phenole.

I. Bestimmung von b_1.

In einer ca. 500 ccm fassenden, mit Glasstopfen versehenen Enghalsflasche versetzt man die genau gemessene Menge der wässerigen Lösung des Phenolgemisches (sofern sie nicht wenigstens 100 ccm beträgt, verdünnt man sie mit Wasser auf dies Volum) mit 20—30 ccm Schwefelsäure (1:1), schüttelt um und fügt aus einer Bürette unter Umschwenken zunächst soviel der Kaliumbromatbromidlösung zu, bis sich beim Schütteln der Niederschlag zusammenballt und die Flüssigkeit deutlich gelb gefärbt ist. Dann lässt man noch den achten Teil der angewandten Menge Lösung hinzufliessen und lässt die Mischung gut verschlossen unter öfterem, kräftigen Schütteln 1 Stunde lang stehen. Hierauf wird unter Vermeiden von Bromverlust durch Glaswolle in 25—30 ccm 5%ige Jodkaliumlösung filtriert, die erste Flasche mit Wasser gut nachgespült, mit diesem zur Absorption freier Bromdämpfe gut durchgeschüttelt und mit diesem Wasser der Niederschlag ausgewaschen. Im Filtrate wird mit $n/_{10}$-Thiosulfatlösung das Jod titriert.

II. Bestimmung von b_2.

Die gleiche Menge der Lösung des Phenolgemisches wie in I versetzt man in einer mit Glasstopfen versehenen Literflasche mit ca. 30 ccm 25%iger Salzsäure und verdünnt bis auf ca. 500 ccm mit Wasser. Dann fügt man unter gleichmässigem langsamem Umschwenken diejenige Menge Bromatbromidlösung hinzu, die nach der b_1-Methode bis zur Gelbfärbung der Flüssigkeit verbraucht wurde, und lässt die Mischung ohne zu schütteln gut verschlossen 15 Minuten stehen. Es kommt hierbei hauptsächlich darauf an, dass der entstehende Niederschlag sehr feinflockig ausfällt, was man nur durch ganz vorsichtiges Umschwenken erzielt.

Nach 15 Minuten versetzt man die Mischung mit 25—30 ccm 5%iger Jodkaliumlösung, schüttelt allmählich um, bis die Flüssigkeit gleichmässig gefärbt ist, und lässt die Mischung 1 Stunde vor Licht geschützt stehen. Darauf schüttelt man mehrere Male kräftig durch und titriert das freie Jod mit $n/_{10}$-Natriumthiosulfatlösung.

Die Berechnung erfolgt auf Grund der S. 789 u. 790 entwickelten Gleichungen:

$$x = 0{,}67605\ (b_1 - b_2),$$
$$y = 0{,}5884\ b_2 - 0{,}3923\ b_1.$$

Digitized by Google

Beispiel: Bei der Bestimmung von b_1 seien 32 + 4 ccm Bromatbromidlösung mit einem Bromwert von 0,1721 g zugesetzt und 4,45 ccm Thiosulfatlösung entsprechend 4,45 . 0,007992 g Br zurücktitriert, dann ist b_1 = 0,1721 g — 0,0356 g = 0,1365 g. — Bei der Bestimmung von b_2 seien 32 ccm Bromatbromidlösung (entsprechend 0,1530 g Br) zugesetzt und 6,9 ccm Thiosulfatlösung zurücktitriert, dann ist b_2 = 0,1530 g — 6,9 . 0,007992 g = 0,0979 g.

Daraus ergibt sich x = 0,0261 g, y = 0,0041 g.

Die Methode gibt gute Resultate, wie Siegfried und Zimmermann neuerdings gegenüber Einwänden von Ditz und Bardach[1]) gezeigt haben.

3. Kolorimetrische bezw. spektrophotometrische Bestimmungen des Phenols.

Einige optische Bestimmungsmethoden seien hier nur ihrem Prinzipe nach erwähnt, weil sie nur für die Bestimmung des Phenols ausgearbeitet sind, während im Harn bzw. Harndestillat sich vorzugsweise Kresol findet.

a) Bonanni[2]) bestimmte den Extinktionskoeffizienten und das Absorptionsverhältnis der gefärbten Verbindung, die Phenol mit Eisenchlorid bildet, und schlug vor, unter Anwendung dieser Konstanten Phenol direkt im Harn zu bestimmen.

b) Bordas und Robin[3]) führen das Phenol im Harndestillat entweder durch Erwärmen mit gesättigter Kaliumnitratlösung und konzentrierter Schwefelsäure in Pikrinsäure über und bestimmen diese kolorimetrisch als Ammoniumpikrat, oder sie benutzen zur kolorimetrischen Bestimmung die Rotfärbung, die eintritt, wenn wässerige Phenollösung und Stickstoffdioxyd mit gesättigter Schwefelsäure zusammen erhitzt werden.

c) Kiesel[4]) destilliert den Harn mit Schwefelsäure und das Destillat nochmals nach Übersättigen mit Soda. Im zweiten Destillate wird die Intensität der Millonschen Reaktion kolorimetrisch mit einer Normallösung verglichen, die auf 3 Teile p-Kresol 1 Teil Phenol enthält.

III. Brenzkatechin.

$C_6H_4(OH)_2$.

Syn. Orthodioxybenzol 1,2.

A. Vorkommen. Das Brenzkatechin findet sich regelmässig im Harn des Menschen, in etwas grösserer Menge im Pferdeharn als Brenzkatechin-Schwefelsäure, im Carnivorenharn und im Harn von Kaninchen nach Milchfütterung fehlt es ganz; es stammt aus der im Pflanzenreich weit verbreiteten Protokatechusäure (Brenzkatechincarbonsäure) $(HO)_2 . C_6H_3 . COOH$ (Preusse). Reichlicher kommt es nach dem Gebrauch von Phenol und phenolschwefelsaurem Salz (Baumann und Preusse, Brieger) oder Benzol (Nencki und Giacosa, Schmiedeberg) als Brenzkatechin-Schwefelsäure im Harn vor. Das

[1]) M. Siegfried und R. Zimmermann, Biochem. Zeitschr. 38. 434. 1912. — H. Ditz und Fr. Bardach, ebenda 37. 272. 1911.

[2]) A. Bonanni, Moleschotts Untersuch. z. Naturlehre Bd. 17. zit. n. Jahrsb. f. Tierch. 30. 122. 1900.

[3]) F. Bordas et L. Robin, Compt. rend. Soc. Biol. 50. 87. 1898.

[4]) K. Kiesel, Monatschr. f. prakt. Tierheilk. 15. 84. 1904. zit. n. Jahrsb. f. Tierch. 34. 104.

Digitized by Google

eine Zeitlang für Brenzkatechin gehaltene und ihm sehr ähnliche Alkapton Boedekers[1]) ist kein Brenzkatechin, sondern eine Alkaptonsäure. (S. Homogentisinsäure.)

Brenzkatechin gibt Moscatelli[2]) an im Harn eines Kaninchens aufgefunden zu haben, welchem Pasteurscher Lyssaimpfstoff injiziert worden war.

B. Eigenschaften. 1. Das Brenzkatechin krystallisiert aus Wasser oder Äther in tetragonalen Prismen, aus Benzol in breiten Tafeln, schmilzt bei 102—104°, siedet bei 240—245° und sublimiert in glänzenden rechtwinkeligen Plättchen. Es löst sich leicht in Wasser, in Alkohol und in Äther, ferner in heissem Toluol und zum Unterschied vom Hydrochinon in kaltem Benzol. Mit Wasserdämpfen ist es etwas flüchtig (Fittig).

2. Seine Lösungen färben sich bei Gegenwart von Alkalihydraten oder kohlensauren Alkalien an der Luft unter Absorption von Sauerstoff grün, grünbraun, braun und endlich schwarz. Seinen mit kohlensaurem Alkali versetzten Lösungen lässt es sich mit Äther entziehen. Mit essigsaurem Blei gibt es im Gegensatz zum Hydrochinon einen weissen, in Essigsäure löslichen Niederschlag. Aus wässeriger Lösung wird es nach Böttinger durch eine ammoniakalische Chlorcalciumlösung als saures Salz $(HO.C_6H_4.O)_2Ca$ gefällt und unterscheidet sich dadurch gleichfalls vom Hydrochinon (und Resorcin). — Bei Zusatz einer heissgesättigten Lösung von Pikrinsäure in 50%igem Alkohol zu einer Lösung von Brenzkatechin in 50%igem Alkohol fällt nach Goedike[3]) eine krystallinische Verbindung beider Körper nach gleichen Molekülen.

3. Mit pyroschwefelsaurem Kali setzt sich das Brenzkatechin in alkalischer Lösung zu brenzkatechin-diäther- und monoätherschwefelsaurem Kali um. Das Salz der Diätherschwefelsäure, $C_6H_4(SO_4K)_2$, bildet ein in absolutem Alkohol unlösliches weisses Krystallpulver, dessen wässerige Lösung mit Eisenchlorid keine Farbenreaktion gibt. Das Kalisalz der Monoätherschwefelsäure, $HO.C_6H_4.SO_4K$, krystallisiert nach dem Verdunsten seiner alkoholischen Lösung in farblosen glänzenden Plättchen, die sich leicht in Wasser lösen, und deren wässerige Lösung durch Eisenchlorid violett wird (Baumann). Beide Ätherschwefelsäuren zersetzen sich bei der Einwirkung von Mineralsäuren und nach Preusse[4]) gleichfalls leicht beim Faulen des Harns.

4. Eisenchlorid färbt Brenzkatechinlösung sofort dunkelgrün, weiterhin wird die Flüssigkeit schwarz; die Reaktion tritt auch noch bei Verdünnungen ein, bei welchen Phenol mit Eisenchlorid nicht mehr gefärbt wird. Macht man die grüne Lösung (bei Gegenwart von Weinsäure) mit Ammoniak alkalisch, so färbt sie sich bei wenig Ammoniak violett, bei viel Ammoniak kirschrot; beim Übersättigen mit Essigsäure wird sie wieder grün, mit Ammoniak wieder violett oder kirschrot. Die Rotfärbung ist viel intensiver als die Grünfärbung (Hlasiwetz und Barth; Ebstein und Müller). — Versetzt man eine Brenzkatechinlösung mit 2 Tropfen 20%iger Eisenchloridlösung und 1 ccm Sulfanilsäurelösung, so tritt eine intensive dunkelrotbraune Färbung ein; die Reaktion ist erheblich empfindlicher als die Grünfärbung mit Eisenchlorid (Bayer[5]). Adrenalin gibt die gleichen Farbenreaktionen.

[1]) Preusse, Ztschr. f. physiol. Ch. 2. 329. — Baumann und Preusse, Ztschr. f. physiol. Ch. 3. 157. 1879. — Brieger, Du Bois' Archiv 1879. Suppl. 67. — Nencki u. Giacosa, Ztschr. f. physiol. Ch. 4. 336. 1880. — O. Schmiedeberg, Archiv f. exper. Pathol. 14. 306. 1881. — Boedeker, Ztschr. f. rat. Med. 3] 7. 130. 1859; Ann. d. Ch. u. Pharm. 117. 98. 1861.

[2]) R. Moscatelli, Virchows Archiv 128. 181. 1892.

[3]) H. Böttinger, Chemiker-Ztg. 19. 23; Chem. Zentralbl. 1895. 4. 332. — R. Goedike, Archives des sc. biol. 2. 422. 1893.

[4]) Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. 2. 343. 1878. — Preusse, Ztschr. f. physiol. Ch. 2. 384. 1878.

[5]) Ebstein u. Müller, Virchows Archiv 65. 394. 1875. — G. Bayer, Biochem. Ztschr. 20. 178. 1909.

Digitized by Google

5. Mit einem Tropfen 2%iger Natriumbichromatlösung gekocht, gibt Brenzkatechin eine rotbraune Färbung; die Empfindlichkeit der Probe wird ebenfalls durch Zusatz von Sulfanilsäure erhöht, die Färbung ist mehr rot (Bayer). Auch diese Reaktionen gibt das Adrenalin.

6. Eine Brenzkatechinlösung reduziert salpetersaures Silber, Goldchlorid, Platinchlorid, übermangansaures Kali schon in der Kälte, alkalische Kupferoxydlösung in der Wärme, dagegen nicht Wismuthoxyd.

7. Bei der Furfurolprobe (S. 768; I. B. 4. e.) färbt sich Brenzkatechin tief kirschrot, später violett (v. Udránszky)[1].

8. Die Phenolprobe von Guareschi (I. B. 4. c; S. 768) gibt das Brenzkatechin nicht. Mit Diazobenzolsulfonsäure in stark alkalischer Lösung färbt es sich dunkelrot (Penzoldt und Fischer).

9. Alvarez[2]) gibt folgende Farbenreaktion des Brenzkatechins an: In eine 30 ccm Porzellanschale gibt man 0,2 g granuliertes, völlig trockenes Natriumperoxyd, 0,04—0,05 g Brenzkatechin und 5 ccm absoluten Alkohol. Nach 4—6 Minuten setzt man 15 ccm destilliertes Wasser zu. Der Alkohol wird vorübergehend hell fleischfarbig, nach 5 oder 6 Minuten grün, schliesslich braun. Ein Tropfen auf Porzellan gebracht und geblasen, wird blaugrün. Der Zusatz von Wasser macht die Flüssigkeit rotbraun.

C. Nachweis. Brenzkatechin enthaltende Harne färben sich bei alkalischer Reaktion an der Luft schnell dunkel. Zur Darstellung des Brenzkatechins empfiehlt Baumann[3]) nach Brieger, sowie nach Nencki und Giacosa folgendes Verfahren.

Der Harn wird mit Salzsäure stark angesäuert, ½ Stunde auf dem Wasserbad erwärmt und nach dem Erkalten mit Äther extrahiert; die Ätherauszüge werden zur Entfernung der Salzsäure und organischen Säuren so oft mit erneuerter Sodalösung geschüttelt, als sich diese noch färbt, der Äther verdunstet und der Rückstand mit kleinen Mengen gesättigter Kochsalz- oder Glaubersalzlösung extrahiert, wobei Phenol und Kresol neben anderen Stoffen grösstenteils ungelöst zurückbleiben. Die Salzlösungen, in welchen Brenzkatechin und Hydrochinon enthalten sein können, werden nach dem Verdünnen mit Wasser so lang destilliert, als flüchtige Phenole übergehen; nach dem Erkalten wird der Destillationsrückstand wieder mit Äther ausgezogen und der Äther verdunstet. Der zurückbleibende Sirup, welcher bei Gegenwart von nicht allzu kleinen Mengen von Hydrochinon krystallinisch erstarrt, wird in Wasser gelöst und unter Vermeidung eines Überschusses mit Bleizucker ausgefällt; der Niederschlag enthält das Brenzkatechin, während das Hydrochinon in Lösung geblieben ist. Der Niederschlag wird in Wasser verteilt, mit Schwefelsäure zersetzt und mit Äther ausgeschüttelt. Beim freiwilligen Verdunsten krystallisiert das Brenzkatechin, wenn es in nicht zu kleinen Mengen vorhanden ist, in kaum gefärbten Prismen. Durch Umkrystallisieren aus heissem Benzol lässt es sich reinigen.

Schmiedeberg[4]) destilliert den Harn mit Salzsäure, bis keine merklichen Mengen von flüchtigen Phenolen mehr übergehen, extrahiert den Retortenrückstand nacheinander mit Äther und Essigäther, verdunstet, erwärmt die rückständige Masse nach dem Lösen in Wasser mit Bariumcarbonat und schüttelt das Filtrat abermals mit Äther aus. Beim Verdunsten krystallisiert das Brenzkatechin (mit dem Hydrochinon) aus.

Eine Trennung beider Dioxybenzole kann man, ausser durch das oben angegebene Verfahren, nach Baumann auch durch Ausziehen der trockenen Substanz

[1]) L. v. Udranszky, Ztschr. f. physiol. Ch. 12. 355. 1888.
[2]) E. P. Alvarez, Chem. News 91. 125. zit. n. Chem. Zentralbl. 1905. I. 1415.
[3]) E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. 8. 188. 1883.
[4]) O. Schmiedeberg, Archiv f. exper. Pathol. 14. 305. 1881.

Digitized by Google

mit kaltem Benzol erzielen; das Brenzkatechin geht in Lösung und das Hydrochinon bleibt zurück.

Zur Erkennung des Brenzkatechins ist am besten das Verhalten desselben gegen Eisenchlorid geeignet (B. 4.). Man darf nur wenig einer verdünnten Eisenchloridlösung hinzusetzen. Ammoniak würde Eisenoxyd niederschlagen; um dies zu verhüten, fügt man der Probe vorher etwas Seignettesalz oder Weinsäure hinzu.

IV. Hydrochinon.

$C_6H_4(OH)_2$.

Syn. Paradioxybenzol 1,4.

A. Vorkommen. Das Hydrochinon ist bisher nur nach Gebrauch von Phenol und Benzol (Baumann und Preusse, Nencki, Brieger, Baumann[1]), sowie nach der Verabreichung von Hydrochinon selbst mit Bestimmtheit im Harn nachgewiesen worden; es ist in ihm als Ätherschwefelsäure enthalten. Doch auch der normale Pferdeharn enthält wahrscheinlich Spuren davon; denn die aus dem Pferdeharn gewonnene Fraktion, aus der das Hydrochinon auskrystallisieren musste (s. Brenzkatechin C.), lieferte zwar keine Hydrochinon-Krystalle, aber sie gab mit Eisenchlorid erwärmt deutlichen Chinongeruch (Baumann).

B. Eigenschaften. 1. Das Hydrochinon bildet rhombische Krystalle (Nadeln oder Tafeln), schmilzt bei 169° (Hlasiwetz), sublimiert bei vorsichtigem Erhitzen unverändert, gibt aber nach Baumann und Preusse, sowie nach Wolkow und Baumann[2]) bei schnellem Erhitzen sehr kleiner Mengen im offenen, weiten Reagenzglas einen violetten Dampf, der sich zu einem indigoblauen Sublimat verdichtet, dessen Farbe beim Hinzubringen von Lösungsmitteln wieder verschwindet. Es löst sich leicht in heissem Wasser, in Alkohol und in Äther; auch löst es sich in heissem Toluol. In kaltem Benzol ist es sehr schwer löslich und unterscheidet sich dadurch vom Brenzkatechin.

2. Gegen Alkalien verhält es sich wie das Brenzkatechin (über das Verhalten gegen Ammoniak und Anilin s. bei Homogentisinsäure B. 9, 10). Durch essigsaures Blei wird es im Gegensatz zum Brenzkatechin nicht gefällt, ebensowenig nach Böttinger durch ammoniakalische Chlorcalciumlösung. Mit Brom gibt es keinen Niederschlag (Landolt)[3]).

3. Es reduziert, wie das Brenzkatechin, leicht Metalloxyde; durch oxydierende Substanzen, z. B. Eisenchlorid, wird es in Chinon übergeführt.

4. Mit Millonschem Reagens gibt nach Wolkow und Baumann[4]) das Hydrochinon in der Kälte einen amorphen gelben Niederschlag, der in der Wärme ziegelrot wird.

5. Bei der Probe nach Alvarez (s. Brenzkatechin B. 9.) färbt sich der Alkohol sofort intensiv rötlichgelb, der Tropfen auf Porzellan wird flüchtig blau, mit Wasser orange.

[1]) Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. 6. 190. 1882.
[2]) Baumann u. Preusse, Ztschr. f. physiol. Ch. 3. 157. 1879. — Wolkow u. Baumann, daselbst 15. 251. 1891.
[3]) H. Böttinger, Chemiker-Ztg. 19. 23; Chem. Zentralbl. 1895. 1. 332. — H. Landolt, Berichte d. chem. Gesellsch. 4. 773. 1871.
[4]) Wolkow u. Baumann, a. a. O. 245.

Digitized by Google

6. Von den Ätherschwefelsäuren hat Baumann die Mono-, Kühling[1]) die Diätherschwefelsäure dargestellt. Das Kalisalz der Monosäure krystallisiert in farblosen rhombischen Tafeln.

C. Nachweis. Hydrochinonhaltige Harne dunkeln bei alkalischer Reaktion schnell an der Luft. Das Hydrochinon wird aus denselben ebenso dargestellt wie das Brenzkatechin.

Beim Ausfällen der Dioxybenzole mit essigsaurem Blei bleibt das Hydrochinon in Lösung. Zur Gewinnung des Hydrochinons aus dieser Lösung verfährt man in folgender Weise. Das Filtrat vom Bleiniederschlag wird mit Schwefelsäure zersetzt, mit kohlensaurem Baryt erwärmt, das Filtrat mit Äther ausgezogen und der nach dem Verdunsten des Äthers hinterbleibende, bald krystallinisch erstarrende, gelbe bis braune Rückstand aus siedendem Benzol oder Toluol umkrystallisiert.

Erkannt wird das Hydrochinon an der Entwickelung violetter Dämpfe und der Bildung eines blauen Sublimats bei schnellem Erhitzen, ferner an der Entwickelung des Geruchs nach Chinon beim Kochen mit Eisenchlorid.

V. Indoxyl.

$C_8H_7NO.$

Das Indoxyl, dessen Indican benannte Ätherschwefelsäure $C_8H_6N.O.SO_2.OH$ im Harn vorkommt, liefert die Hauptmenge des aus dem Harn darstellbaren Indigblaus und Indigrots.

Aus normalem und pathologischem Harn lässt sich, wie schon seit langer Zeit bekannt ist, blauer und roter Farbstoff gewinnen, welcher verschiedene Namen erhielt: Cyanurin (Braconnot, Semmola), Uroglaucin und Urrhodin (Heller), Urocyanin (Martin), Harnblau (Virchow), und in dessen blauem Anteil von A. Hill Hassall, sowie von Sicherer Indigblau erkannt wurde. Schunck hielt die Substanz, von welcher das Indigblau abstammt, für identisch mit dem Chromogen der Indigpflanzen, dem Indican. Auch machte Schunck den ersten Versuch, das Indican aus dem Harn zu isolieren. Nachdem aber F. Hoppe-Seyler die Verschiedenheit des Harn- und Pflanzenindicans, und Jaffe durch Fütterungsversuche in dem Indol die Muttersubstanz des Harnindicans erkannt hatten, gelang Baumann der Nachweis, dass das Harnindican eine den Phenolschwefelsäuren analoge Ätherschwefelsäure eines Oxydationsproduktes des Indols, des Indoxyls, ist. In Gemeinschaft mit Brieger und Tiemann hat Baumann[2]) dann weiter die Eigenschaften der Indoxylschwefelsäure festgestellt.

Neben der Indoxylschwefelsäure kommt noch ein zweiter Indoxylabkömmling, die Indoxylglycuronsäure, im Harn vor, von welcher, als leichter zersetzlicher Verbindung, das bei der Fäulnis des Harns auftretende Indigblau abstammt.

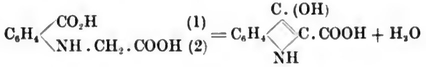
Das Indoxyl selbst ist zuerst von Baumann und Tiemann aus der Indoxylschwefelsäure des Harns erhalten, dann von Baeyer aus o-Nitrophenylpropiolsäure synthetisch gewonnen und als ein in Wasser lösliches, unbeständiges, leicht ver-

[1]) Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. 2. 344. 1878. — O. Kühling, Über Stoffwechselprodukte aromatischer Körper. Diss. Berlin 1887; Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1888. 525.

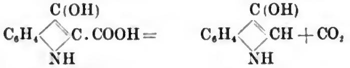
[2]) Arth. Hill Hassal, Philos. Magaz. [4] 6. 226. 1853. — Sicherer, Ann. d. Ch. u. Pharm. 90. 120. 1854. — Baumann, Pflügers Archiv 13. 304. 1876. — Baumann u. Brieger, Ztschr. f. physiol. Ch. 3. 254. 1879; Ber. d. chem. Gesellsch. 12. 2166. — Baumann u. Tiemann, Ber. d. chem. Gesellsch. 12. 1098 u. 1192. 1879; 13. 408. 1880.

Digitized by Google

harzendes Öl beschrieben worden. Im krystallinischen Zustand wurde es erst 1901 von Vorländer und Drescher[1]) dargestellt durch Zersetzung von Indoxylsäure mit warmem Wasser unter Leuchtgas, Filtrieren von ungelöstem Harz und Einstellen der gelben, grün fluoreszierenden Lösung in Eiswasser. Die Indoxylsäure ist durch das Verfahren der Natronschmelze von Phenylglycin-o-carbonsäure zu Zwecken der Indigo-Synthese jetzt ein leicht zugängliches Material geworden.



Phenylglycin-o-carbonsäure Indoxylsäure



Indoxylsäure Indoxyl.

A. Vorkommen. Das Indoxyl entsteht im Körper als Oxydationsprodukt des Indols (Jaffe), das durch die Untersuchungen von Kühne und Nencki als Fäulnisprodukt der Eiweisskörper erkannt wurde. Von aufgenommenem Indol scheidet der Mensch nach Kauffmann etwa 50% als Indoxyl aus. Das durch Bakterienwirkung aus den Eiweisskörpern entstehende Indol stammt aus deren Tryptophankomplex. Bringt man Tryptophan (Indolaminoproprionsäure) direkt in den Dickdarm von Kaninchen, so kann etwa $^1/_3$ der theoretisch möglichen Menge im Harn als gepaartes Indoxyl ausgeschieden werden, während per os gegebenes Tryptophan nicht zu einer Indicanvermehrung im Harn führt (Ellinger und Gentzen). Eiweisskörper und Albuminoide, die wie der Leim und das Zein keine Tryptophangruppe enthalten, bewirken keine vermehrte Indoxylausscheidung (Underhill)[2]).

Bedingungen für das Erscheinen von Indoxyl im Harn sind also die Einwirkung von Mikroorganismen, die der Indolbildung fähig sind, auf Tryptophankomplexe im Darm oder an anderen Stellen des Körpers, wie in Empyemen u. dgl., ferner eine ausreichende Resorption des gebildeten Indols und Oxydation des Indols zu Indoxyl. Bei dem letztgenannten Prozess scheint die Leber beteiligt zu sein. Denn nach Gautier und Hervieux bleibt bei Fröschen die Indicanausscheidung nach Injektion von Indol aus, wenn man ihnen die Leber exstirpiert. Andererseits sehen Gilbert und Weil[3]) auf Grund klinischer Be-

[1]) A. v. Baeyer, Ber. d. chem. Gesellsch. 14. 1744. 1881. — D. Vorländer, und B. Drescher, ebenda 34. 1856. 1901 und 35. 1701. 1902.

[2]) M. Kauffmann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 71. 1. 1911. — A. Ellinger und M. Gentzen, Hofmeisters Beiträge 4. 171. 1904. — F. P. Underhill, Amer. journ. of physiol. 12. 176. 1905.

[3]) Cl. Gautier u. Ch. Hervieux, Journ. de physiol. et path. 9. 593. 1907. — A. Gilbert u. E. Weil, Compt. rend. Soc. Biol. 52. 685. 1900.

Digitized by Google

obachtungen gerade Leberinsuffizienz als eine Ursache von Indoxylurie an.

Beim normalen erwachsenen Menschen und Säugetier sind die Bedingungen für die Indicanausscheidung durch die Darmfäulnis von Eiweisssubstanzen gegeben. Die Indoxylmenge (auf Indigo berechnet) schwankt etwa zwischen 5—20 mg in der Tagesmenge beim Menschen. Die Nahrung ist von erheblichem Einfluss. Fleischkost begünstigt die unter Indolbildung verlaufende Eiweissfäulnis, Kohlehydratzufuhr und Milchdiät setzen sie herab (Hirschler, Winternitz, Biernacki). Wang fand bei vorwiegender Fleischkost 15,9—20,1 mg, bei gemischter Kost 4.3—5,3 mg. Wesentlich höhere Werte (49 mg) fanden Sherwin u. Hawk bei eiweissreicher Kost ohne Fleisch. Auch im Hunger verschwindet das Indican nicht aus dem Harn (F. Müller), vielmehr halten sich die Werte dann meist zwischen denjenigen bei Fleischkost und den bei vorwiegender Kohlehydratnahrung auftretenden. Doch kann unter Umständen im Hunger das Indican bis auf Spuren verschwinden (Tuczek)[1]). Nach Hattrem und Hawk drückt reichliches oder mässiges Wassertrinken die Indikanausscheidung herab.

Bei Hunden, Katzen und Kaninchen ist das Verhalten der Indicanausscheidung prinzipiell dasselbe wie beim Menschen, wie folgende Tabelle zeigt, die die Indigowerte der täglichen Harnmenge in mg gibt.

Nahrung	Katze	Hund	Kaninchen
	(F. Müller)	(F. Müller)	(Ellinger [2]))
Eiweiss- + Kohlehydrate	0,65 (Erbsen)	1,05 (Erbsen)	0,8 (Hafer)
vorwiegend Eiweiss	4,8 (Fleisch)	11.2 (Fleisch)	7,8 (Nutrose)
vorwiegend Kohlehydrate	1,1 (Stärke)	1,1 (Stärke)	0 (Rüben)
Hunger	1,36	6,69	3,5

Im Kuhharn fand Salkowski etwa 27 mg pro Liter; besonders reich an Indican ist der Pferdeharn, in dem Jaffe bis 220 mg, Bauer[3]) 183 mg im Liter fand. Die Werte von Jaffe bedürfen einer Korrektur, weil dem gewogenen Indigo wohl Verunreinigungen angehaftet haben.

Wegen der Abwesenheit von Mikroorganismen im Darm Neugeborener findet sich in ihrem Harn kein Indican (Senator) und bei Brustkindern ist nach Hochsinger und Momidlowski[4]) der Harn in der Regel gleichfalls indicanfrei. Säuglinge, welche neben Frauenmilch auch Kuhmilch erhalten, haben trotz normaler Verdauung konstant kleine Mengen Indican im Harn.

[1]) A. Hirschler, Ztschr. f. physiol. Ch. **10**. 306.1886. — H. Winternitz ebenda **16**. 460. 1892. — E. Biernacki, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **49**. 87. 1891. — E. Wang, Om Indicanuri, Christiania 1900. — C. P. Sherwin und P. B. Hawk, Journ. of biol. chem. **11**. 169. 1911, dort Lit. — F. Müller, Mitt. aus d. Würzburger Klinik **2**. 341. 1886. — F. Tuczek, Arch. f. Psychiatrie **15**. 784. 1885.

[2]) A. Ellinger, Ztschr. f. physiol. Ch. **39**. 44. 1903.

[3]) E. Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **42**. 247. 1904. — E. Bauer, Nachweis und Bedeutung des Indicans im Harn des Pferdes. Inaug.-Diss. Giessen 1905.

[4]) H. Senator, Ztschr. f. physiol. Ch. **4**. 1. 1879. — C. Hochsinger, Wiener med. Presse Nr. 40 u. 41. 1890. — St. Momidlowski, Jahrb. f. Kinderheilk. **36**. 192. 1893.

Digitized by Google

Bei den steril ernährten Meerschweinchen von Nuttall und Thierfelder fehlte auch das Indoxyl im Harn. Bei Hunden gelingt es durch grosse Calomelgaben den Harn indoxylfrei zu machen (Baumann)[1]).

Einen ganz besonders starken Einfluss auf die Indoxylvermehrung im Harn übt eine Stauung des Dünndarminhalts. Jaffe stellte das zunächst an Patienten mit hoch sitzenden Darmstenosen fest, und erreichte dann bei Hunden durch Unterbindung des Dünndarms hohe Indicanwerte, die bei Dickdarmunterbindung ausblieben. Ellinger und Prutz[2]) erzeugten experimentell bei Hunden noch weitergehende Stauungen des Darminhalts durch die Methode der „Darmgegenschaltung“: Sie trennten eine Darmschlinge aus der Kontinuität, vereinigten ihr unteres Ende mit dem zuführenden, ihr oberes Ende mit dem abführenden Darm, so dass an der oberen Naht, wo die Peristaltik der gegengeschalteten Schlinge der Peristaltik des zuführenden Darms entgegenarbeitete, eine intensive Stauung des Inhalts erfolgte. Nach Gegenschaltung im Dünndarm wurde bei einem grossen Hunde der Maximalwert von über 500 mg Indigo im Harn erreicht, bei Stauung im Dickdarm stiegen die Werte nur unbedeutend. Zeigten sich nach einigen Tagen erheblichere Anstiege, so lehrte die Autopsie am lebenden Tiere, dass die Ileocöcalklappe schlussunfähig geworden war und die Stauung sich bis in den Dünndarm erstreckte.

Für die Indicanmenge ist auch der Zutritt von Pankreassaft zum Darm von Bedeutung. Wird dieser durch Unterbindung der Pankreasausführungsgänge beim Hunde verhindert, so gehen die Indicanwerte herab (Pisenti)[3]).

Unter Berücksichtigung aller angeführten Momente wie Resorptionsbedingungen, Peristaltik, Zutritt des Pankreassaftes zum Darm, Beschaffenheit der Darmflora, Lebertätigkeit, ergibt sich die Eiweissfäulnis im Darm als wichtigste Quelle der Indicanvermehrung, demnächst Indolbildung durch Mikrobentätigkeit ausserhalb des Darmkanals bei Eiterungen, Verjauchungen usw., die meist quantitativ nicht so beträchtlich ist wie bei der Darmfäulnis (Porcher)[4]).

Damit stimmen die klinischen Erfahrungen überein. Die höchsten Werte sind bei Dünndarmverschlüssen, bei Peritonitis mit Darmlähmung, Typhus abdominalis namentlich bei Darmblutungen und bei Carcinomen mit Sitz im Magen-Darmkanal beobachtet. Grössere Mengen als etwa 150 mg in der Tagesmenge dürften kaum gefunden sein (Lit. s. bei Wang, Scholz, Jaffe)[5]).

---

[1]) E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **10**. 123. 1886.

[2]) M. Jaffe, Virchows Arch. **70**. 72. 1877. — A. Ellinger u. W. Prutz, Ztschr. f. physiol. Ch. **38**. 399. 1903.

[3]) G. Pisenti, Arch. per le scienze med. **12**. Nr. 5. 1887; zit. n. Jahresb. f. Tierchem. **27**. 277.

[4]) Ch. Porcher, Compt. rend. de l'acad. d. scienc. **147**. 214. 1908.

[5]) E. Wang, Om Indicanuri, Christiania 1900. — H. Scholz, Beiträge zur Frage der Entstehung des Indicans im Tierkörper. Inaug.-Diss. Königsberg 1903. — M. Jaffe, Die deutsche Klinik am Eingange des 20. Jahrhunderts Bd. I. S. 199. 1903.

Digitized by Google

Schon in der grundlegenden Arbeit von Jaffe ist die Frage erörtert worden, ob auch eine Indolbildung ohne Mitwirkung von Bakterien im Organismus stattfände und zur Indoxylurie führen könne, und die von Senator beobachtete starke Indicanreaktion bei manchen Konsumptionskrankheiten schien manchem eine Stütze für die Annahme, dass bei Zerfall von Körpereiweiss mehr Indican im Harn erschiene. Für diese Annahme sind auch Harnack und v. d. Leye auf Grund von Versuchen bei Oxalsäure-Vergiftung eingetreten und namentlich Blumenthal, Rosenfeld und Lewin deuteten ihre Beobachtungen an Kaninchen mit Zuckerstich und solchen, die mit Phloridzin vergiftet oder unterernährt waren, in diesem Sinne. Durch die Versuche von Scholz, P. Mayer, Ellinger, die zu anderen Resultaten gelangten, und durch die Kritik von Jaffe scheint mir die Beweiskraft jener Ergebnisse beseitigt zu sein. Auch die Beobachtungen von Moraczewski [1], dass Indolgehalt der Fäces und Indoxylgehalt des Harns nicht parallel gehen, kann als ein Beweis für die Entstehung von Indol bzw. Indican ohne Mikrobentätigkeit nicht angesehen werden.

B. Eigenschaften. Das nach den oben erwähnten Vorschriften von Vorländer und Drescher rein dargestellte Indoxyl bildet gelbe flache Prismen vom Schmelzpunkt 85⁰. Es löst sich in Wasser, Alkohol, Äther, Chloroform, Eisessig und Benzol, besonders leicht in Aceton, sehr wenig in Petroläther. Die wässerige Lösung fluoresziert grün, die Fluoreszenz verschwindet auf Zusatz von überschüssiger Kalilauge oder Salzsäure, nicht von Sodalösung. Indoxyl ist im Vacuum kaum destillierbar, verflüchtigt sich jedoch teilweise unzersetzt beim Erhitzen für sich oder mit schwach überhitztem Wasserdampf (105 bis 110⁰); die Dämpfe riechen fäcal.

2. Säuert man eine mit Natriumnitrit versetzte wässerige Lösung von Indoxyl an, so scheiden sich schwach gelbliche, feine Nadeln aus (v. Baeyer) [2], die wahrscheinlich das Nitrosamin des Indoxyls $C_6H_4\left\langle\begin{matrix}C.OH\\N.NO\end{matrix}\right\rangle CH$ darstellen und beim Erwärmen mit Salzsäure Indigo liefern.

3. Mit salzsaurem Diazobenzol scheidet Indoxyl in verdünnter wässeriger Lösung sehr schwer lösliche, rote Nadeln ab, die aus Alkohol umkrystallisiert bei 236⁰ schmelzen und wahrscheinlich die Zusammensetzung $C_6H_4\left\langle\begin{matrix}C.OH\\N-N_2.C_6H_5\end{matrix}\right\rangle CH$ besitzen. Der Körper löst sich in erwärmter Natronlauge mit rotbrauner Farbe und wird durch Kohlensäure wieder ausgefällt. In sehr starker Verdünnung färben sich Indoxyllösungen mit salzsaurem Diazobenzol gelbrot (v. Baeyer).

4. Säuert man eine wässerige Lösung von Indoxyl, der man Paranitrobenzaldehyd, Terephtalsäurealdehyd, Anthroxanaldehyd in Eisessig oder Brenztraubensäure in wässeriger Lösung zugesetzt hat, mit Salzsäure an, so entstehen beständige rote Niederschläge von Indogeniden, wobei das Indoxyl in seiner Ketoform in Reaktion tritt, z. B.

$$C_6H_4\left\langle\begin{matrix}CO\\NH\end{matrix}\right\rangle CH_2 + O.CH.C_6H_4.NO_2 = C_6H_4\left\langle\begin{matrix}CO\\NH\end{matrix}\right\rangle C = CH.C_6H_4.NO_2 + H_2O.$$

[1] F. Rosenfeld, Hofmeisters Beiträge 5. 84. 1904 (Lit.). — A. Ellinger, Ztschr. f. physiol. Ch. 39. 44. 1903. — W. Moraczewski, zit. n. Jahresber. f. Tierch. 39. 395. 1909.

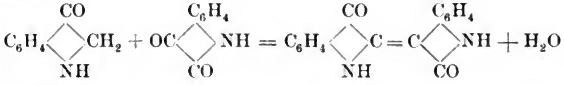
[2] A. v. Baeyer, Ber. d. chem. Gesellsch. 16. 2190. 1883.

Digitized by Google

Das Indogenid des p-Nitrobenzaldehyds bildet, aus Aceton umkrystallisiert, rote Nädelchen vom Schmelzpunkt 273° (v. Baeyer).

5. Analog den beschriebenen Indogenidbildungen verläuft die Bildung von Indigorot aus Indoxyl und Isatin. Versetzt man eine Lösung von Indoxyl und Isatin in Alkohol mit Natriumcarbonat, so scheidet sich Indirubin in rotbraunen, metallglänzenden Nadeln aus (v. Baeyer). Auch sehr verdünnte Indoxyllösungen geben mit Isatinsalzsäure (20 mg Isatin in 1 Liter Salzsäure vom spez. Gew. 1,19) beim Erwärmen auf dem Wasserbad Indigrot, das durch Chloroform der Lösung entzogen werden kann. Die Reaktion ist zum Nachweis und zur Bestimmung von Indoxyl im Harn von Bouma[1]) verwendet worden.

Nach v. Baeyer vollzieht sich die Indigorotbildung nach folgender Gleichung:



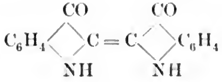
Pseudoindoxyl Isatin Indigorot

6. Indoxyl ist ausgezeichnet durch seine leichte Oxydierbarkeit. Das mit Säure aus der Indoxylschwefelsäure abgeschiedene Indoxyl verwandelt sich schon durch den Sauerstoff der Luft teilweise in Indigblau und Indigrot, von denen nach Nencki[2]) das Indigrot vorwaltet.

$$2\ C_8H_7NO + 2\ O = C_{16}H_{10}N_2O_2 + 2\ H_2O.$$

Eisenchlorid oxydiert es bei Gegenwart von Salzsäure schon in gelinder Wärme ebenso, während Eisenchlorid für sich einen weissen amorphen Niederschlag gibt, welcher sich in Berührung mit Salzsäure sofort in Indigblau und nur wenig Indigrot verwandelt. Ebenso verhalten sich Chlor, Brom und zahlreiche andere Oxydationsmittel, von denen beim Nachweis unter D. die Rede sein wird. Ausserordentlich rasch erfolgt seine Oxydation durch den Sauerstoff der Luft in alkalischer Lösung; eine solche überzieht sich alsbald mit einer Haut von Indigblau.

Dem Indigoblau kommt nach v. Baeyer die Formel



zu.

[1]) v. Baeyer, Ber. d. chem. Gesellsch. 14. 1745. 1881. — J. Bouma, Ztschr. f. physiol. Ch. 32. 82. 1901.

[2]) M. Nencki, Ber. d. chem. Gesellsch. 9. 299. 1876.

Verlag von J. F. BERGMANN in Wiesbaden.

Soeben erschien:

Lehrbuch
der
Mikrochemie.

Von

Friedrich Emich,
o. Professor der Chemie an der techn. Hochschule Graz.

Mit 30 Textabbildungen.

Preis geh. Mk. 6.65, geb. Mk. 7.85.

Aus Besprechungen:

Die Herausgabe des Emichschen Lehrbuches zu einer Zeit, wo die Anleitung von Behrens vergriffen ist und sehr wenige umfassende Arbeiten auf dem Gebiete der Mikrochemie erschienen sind, ist sehr willkommen zu heissen. Gerade weil die Mikrochemie noch im Anfang ihrer Entwicklung begriffen ist und zunächst auch viele Mitarbeiter an sich zu ziehen hat, ist ein Lehrbuch wie das Emichsche nicht warm genug zu empfehlen. Ohne auf Einzelheiten einzugehen, sei hier mitgeteilt, dass Emich sein Lehrbuch sehr breit und allgemein gehalten hat, und nicht nur seine eigenen, sondern alle Arbeiten, die die heutige Literatur aufweist, berücksichtigt hat. In dieser Hinsicht unterscheidet es sich sehr vorteilhaft von der Behrensschen Anleitung. Dagegen kann es natürlich nicht die langen eingehenden Beschreibungen der mikrochemischen Reaktionen darbieten wie das Buch von Behrens, wodurch dieses besonders für Anfänger in der Mikrochemie so leicht verständlich und so wertvoll bei mikrochemischen Arbeiten ist. Die knappe, gedrängte Form des Emichschen Lehrbuches ist besonders da vorzüglich brauchbar, wo den mikrochemischen Praktikanten Anleitung bei der Arbeit gegeben wird, und wird durch seine Fülle von Literaturangaben jedem von Nutzen sein, der sich mit der Mikrochemie näher beschäftigen will. *Schoorl i. d. Chemiker-Zeitung.*

Fortsetzung umstehend.

Emich, Frdr., Prof. Lehrbuch der Mikrochemie mit 30 Textabbildungen. Mk. 6.65, geb. Mk. 7.85.

Aus Besprechungen ferner:

Mit dem vorliegenden Werke hat einer der jüngsten Zweige der Chemie ein zusammenfassendes Lehrbuch erhalten. Bislang war eine Orientierung auf diesem Gebiete recht schwer zu erzielen, und es dürften die Vorträge, die der Verfasser selbst im Laufe der letzten Jahre hielt, das vollständigste gewesen sein, das dem fernerstehenden Chemiker geboten wurde. Zahlreiche Fachgenossen werden dem Verfasser für die sorgfältige Zusammenstellung der Materie, die zum grossen Teile von ihm durchforscht wurde, Dank wissen, und es ist zu hoffen, dass der Wunsch des Verfassers nach Verbreitung der mikrochemischen Methoden durch dieses Buch seiner Erfüllung näher gerückt wird. *Österreichische Chemiker-Zeitung.*

Das vorliegende interessante Werk enthält eine zusammenfassende Darstellung jener interessanten Untersuchungen, die sich auf die Erkennung und Bestimmung minimaler Stoffmengen beziehen. . . . .

. . . . Neben der Wichtigkeit dieser Methode für jeden, also auch für den Kolloidchemiker, hat der letztere noch ein ganz besonderes Interesse für die methodische Mikrochemie. Dies beruht auf der Tatsache, dass eine ganze Anzahl nicht nur der empfindlichsten analytischen Reaktionen überhaupt, sondern insbesondere auch eine Anzahl mikrochemischer Methoden auf Kolloiderscheinungen beruhen. . . . .

. . . . Das mit zahlreichen Abbildungen und einer Fülle von lehrreichen und praktischen Anmerkungen, Hinweisen usw. versehene Buch sei wärmstens empfohlen, um so mehr, als der Verfasser zweifellos zu den allerbesten Kennern des Gebietes gehört.

Zeitschrift für Chemie und Industrie der Kolloide, Bd IX, Heft 5.

Dieses Lehrbuch ist nicht nur für Chemiker, sondern auch für Botaniker und für Naturforscher überhaupt praktisch wertvoll, die die Chemie als Hilfswissenschaft zumal bei mikroskopischen Untersuchungen zu benutzen Anlass haben.

7. In konzentrierter Schwefel- oder Salzsäure ist das Indoxyl nach Baeyer verhältnismässig beständig, erwärmt man es dagegen mit verdünnter Salzsäure, so bildet sich unter Entwickelung eines unangenehmen Geruchs ein amorpher roter Körper. — Beim Erhitzen mit trockenem Baryumhydrat liefert das Indoxyl (indoxylschwefelsaures Kali) nach Baumann als einziges aromatisches Zersetzungsprodukt Anilin, mit Brom gibt es Tribromanilin (aus wässeriger Lösung amorpher, brauner, flockiger Niederschlag, Baumann[1]), bei der Oxydation mit übermangansaurem Kali eine Säure von den Eigenschaften der Anthranilsäure.

8. Indoxylschwefelsäure. Beim Erwärmen einer konzentrierten Lösung von Indoxyl in Kali mit pyroschwefelsaurem Kali nach Baumanns Verfahren erhält man nach Baeyer[2]) das von Baumann und seinen Schülern aus Harn dargestellte (s. unter C.) indoxylschwefelsaure Kali $C_8H_6N . SO_2 . OK$.

Es bildet blendend weisse Tafeln und Plättchen, welche dem phenol- oder kresolschwefelsauren Kali sehr ähnlich sind, löst sich leicht in Wasser, sehr schwer in kaltem Alkohol, leichter in heissem. Lösungen des Salzes lassen sich beliebig oft abdampfen, bei Gegenwart von Kalilauge selbst mehrere Stunden auf 160—170° erhitzen, ohne dass sich die Säure zersetzt, in wässeriger neutraler Lösung zerfällt das Salz aber bei 120—130° in saures schwefelsaures Kali und ein Gemenge von Indigblau und Indigrot. Mineralsäuren spalten schon in der Kälte, leichter beim Erwärmen, Indoxyl ab, welches sich an der Luft, schneller durch andere Oxydationsmittel in Indigblau und Indigrot verwandelt. Mit Essigsäure aber lässt sich eine Lösung des Salzes einige Zeit erhitzen, ohne dass sich die Säure zersetzt. Wird das Salz in einem trockenen Rohr schnell zum schwachen Glühen erhitzt, so sublimiert Indigo.

9. Die wenig bekannte Indoxylglycuronsäure ist noch weniger beständig als die indoxylschwefelsauren Salze. Auf ihre Zersetzung bezieht man die Abscheidung der Indigfarbstoffe aus Harn bei längerem Stehen desselben, beim Eindampfen und bei der alkalischen Harngärung.

Das Vorkommen der Indoxylglycuronsäure im normalen Harn wurde durch Neuberg und P. Mayer[3]) wahrscheinlich gemacht. Aus der Bleiessig-Ammoniakfällung des Alkohol-Ätherextrakts von 50 Liter angesäuertem Harn erhielten sie durch Zersetzung des Bleisalzes mit Schwefelwasserstoff eine linksdrehende Lösung, welche schwach die Reaktionen der gepaarten Glycuronsäuren, und nach der Hydrolyse die Reaktionen des Indoxyls bei den Proben von Jaffe und Obermayer (s. D.) gab.

[1]) E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. 1. 62. 1877.
[2]) A. v. Baeyer, Ber. d. chem Gesellsch. 14. 1745. 1881.
[3]) C. Neuberg u. Mayer, Ztschr. f. physiol. Ch. 29. 256. 1900.

Digitized by Google

Die Anwesenheit von Indoxylglycuronsäure wurde aus der Linksdrehung und dem Reduktionsvermögen des Harns nach Verfütterung von Indol (Baumann, Külz) von Schmiedeberg erschlossen. Auch nach Verabreichung von Orthonitrophenylpropiolsäure hat G. Hoppe-Seyler[1]) das Vorkommen von Indoxylglycuronsäure neben Indoxylschwefelsäure wahrscheinlich gemacht.

C. Darstellung des indoxylschwefelsauren Kalis aus Harn. Es ist zwar möglich, wie G. Hoppe-Seyler gezeigt hat, das Salz aus normalem (Hunde-) Harn zu gewinnen, auch aus einem unter pathologischen Verhältnissen an Indican reichen menschlichem Harn ist es von Otto[2]) dargestellt worden; doch ist da die Ausbeute nur sehr gering. Zweckmässiger verarbeitet man daher Harn (von Hunden), welcher nach der Verabreichung von indoxylbildender Substanz (Indol nach Baumann und Brieger, Orthonitrophenylpropiolsäure nach G. Hoppe-Seyler) entleert worden ist.

a) Baumann und Brieger[3]) bedienten sich folgenden Verfahrens. Der Harn wurde zur Krystallisation verdampft, die braunrote Mutterlauge mit Alkohol von 90% extrahiert, der alkoholische Auszug in der Kälte mit alkoholischer Oxalsäurelösung ausgefällt, nach 10 Minuten der Niederschlag abfiltriert und das Filtrat sofort mit alkoholischer Kalilösung schwach alkalisch gemacht. Die abermals filtrierte Flüssigkeit wurde darauf auf etwa die Hälfte eingedampft und nun mit dem gleichen Volumen Äther versetzt, wodurch ein reichlicher sirupöser Niederschlag enstand, der neben Salzen, Harnstoff, Extraktivstoffen usw. den grösseren Teil des Indicans enthielt. Dieser Sirup wurde wiederholt mit Alkohol von 96% extrahiert und die Auszüge mit dem gleichen Volumen Äther gefällt. Bei Wiederholung dieses Verfahrens mit den Auszügen blieb endlich aller Harnstoff in Lösung, während der Alkohol einen Teil der Extraktivstoffe zurückliess. Zuletzt wurde die so gereinigte alkoholische Lösung mit so viel Äther versetzt, bis eine bleibende Trübung entstand; beim Stehen der Flüssigkeit in der Kälte schied sich das indoxylschwefelsaure Kali in Warzen mikroskopischer Tafeln an der Wand und in grossen durchsichtigen Tafeln in der Flüssigkeit selbst aus. Durch allmählichen weiteren Zusatz von Äther nahmen die Krystalle an Menge zu. Von zugleich abgeschiedener sirupöser Substanz liessen sie sich durch Abwaschen mit kaltem Alkohol befreien. Zuletzt wurden die Krystalle 1—2 mal aus heissem Alkohol umkrystallisiert.

b) Nach G. Hoppe-Seyler[4]) wird der Harn zum dünnen Sirup verdampft, mit 96%igem Alkohol ausgefällt und das Filtrat mit dem gleichen Volumen Äther von 0,722 Dichte versetzt. Die nach 24 Stunden abgegossene klare Flüssigkeit wird in der Kälte mit alkoholischer Oxalsäurelösung ausgefällt, schnell filtriert nud mit konzentrierter Lösung von kohlensaurem Kali schwach alkalisch gemacht. Vom Filtrat wird der Äther abdestilliert, der Rest (unter Erhaltung der alkalischen Reaktion) zum dicklichen Sirup eingedampft, dieser in der Kälte mit der 15- bis 20 fachen Menge absoluten Alkohols aufgenommen und in einem verschlossenen Gefäss einen Tag stehen gelassen. Der dabei entstandene Niederschlag wird mit 96%igem Alkohol ausgekocht und die Lösung der Krystallisation überlassen. Das Filtrat wird mit Äther gefällt, schnell von den zuerst ausfallenden Schmieren abgegossen und in der Kälte längere Zeit stehen gelassen. Die Krystallplättchen, welche sich bald aus den beiden Lösungen ausscheiden, werden durch Umkrystalli-

[1]) O. Schmiedeberg, Arch. f. exper. Path. 14. 308. 1881. — G. Hoppe-Seyler, Ztschr. f. physiol. Ch. 7. 179 u. 425. 1882/83.

[2]) G. Hoppe-Seyler, Ztschr. f. physiol. Ch. 8. 79. 1883. — Jac. G. Otto, Pflügers Archiv 33. 612. 1884.

[3]) E. Baumann u. L. Brieger, Ztschr. f. physiol. Ch. 3. 255. 1879.

[4]) G. Hoppe-Seyler, Ztschr. f. physiol. Ch. 7. 423. 1883.

Digitized by Google

sieren aus heissem Alkohol gereinigt. — Zur Darstellung des Salzes aus normalem Hundeharn verwendete Hoppe-Seyler 25 l desselben.

c) Die älteren Methoden, nach welchen das Indiean aus dem Harn durch essigsaures Blei und Ammoniak gefällt wird, liefern nur ein sehr unreines Präparat.

D. Nachweis. 1. Nach Jaffe[1]) wird das Indican in stark saurer Lösung mit unterchlorigsaurem Salz oxydiert. Das sich ausscheidende Indigblau führt man nach Stokvis durch Schütteln mit Chloroform in dieses über.

Man setzt in einem Reagenzglas zu Harn dasselbe Volumen konzentrierter Salzsäure sowie einige Kubikzentimeter Chloroform und darauf eine konzentrierte Chlorkalklösung oder verdünnte Lösung von unterchlorigsaurem Natron Tropfen um Tropfen, indem man nach dem Zusatz jedes Tropfens tüchtig umschüttelt. Das Chloroform färbt sich dabei allmählich blau. Ein sehr kleiner Überschuss von Chlorkalk tut der Reaktion keinen wesentlichen Eintrag, ein grösserer bringt aber das Indigblau durch Oxydation desselben zu einem farblosen Körper wieder zum Verschwinden oder lässt es gar nicht erst zum Vorschein kommen. Wie mit unterchlorigsaurem Salz kann man die Oxydation auch durch vorsichtigen Zusatz von schwachem Chlor- oder Bromwasser vornehmen.

Eiweisshaltiger Harn ist vor der Probe vom Eiweiss zu befreien. Sehr dunkler Harn lässt sich durch Fällen mit Bleiacetat für die Probe geeigneter machen.

2. Das Chloroform bildet mit dem Harn eine sich schwer scheidende Emulsion. Obermayer[2]) hat deshalb das Verfahren in zweckmässiger Weise dahin abgeändert, dass er den Harn vor der Oxydation mit konzentrierter Bleizuckerlösung ausfällt. Die Oxydation wird durch Eisenchlorid vorgenommen. Das Chloroform setzt sich als klare Schicht am Boden des Glases ab.

Es muss ein Überschuss von Bleisalz vermieden werden, weil sich sonst bei dem nachfolgenden Zusatz von Salzsäure Chlorblei abscheidet, welches das Chloroform trübt. Von einer 20%igen Bleizuckerlösung braucht man ungefähr $^1/_5$ Volumen. Das Fällen mit dem Bleisalz hat nicht bloss den Vorteil der Beseitigung der emulsionbildenden Substanz, sondern auch den, dass die Reaktion störende fremde Farbstoffe (Gallenfarbstoff) entfernt werden. Das Filtrat von dem Bleiniederschlag schüttelt man mit dem gleichen Volumen rauchender (roher) Salzsäure, in welcher auf 1 Ltr. 2—4 g Eisenchlorid aufgelöst sind, und der nötigen Menge Chloroform 1—2 Min. lang. Es tritt auch hier Indigrot auf, welches mit in das Chloroform übergeht.

Eine Überoxydation zu Isatin lässt sich auch bei Anwendung von Eisenchlorid nicht vermeiden (Ellinger)[3]). Durch die gleichzeitige Entstehung von Isatin erklärt sich vielleicht die Bildung des stets neben dem Indigoblau auftretenden Indigorot (s. B. 5.).

Die Proben von Jaffe und Obermayer versagen im Harn nach Zusatz von Formaldehyd (Jaffe)[4]), wahrscheinlich weil der Aldehyd mit Indoxyl ein Kondensationsprodukt bildet.

---

1) M. Jaffe, Pflügers Archiv **3**. 448. 1870.
2) F. Obermayer, Wiener klin. Wochenschr. **9**. 176. 1890.
3) A. Ellinger, Ztschr. f. physiol. Ch. **38**. 186. 1903.
4) M. Jaffe, Therapie d. Gegenwart. April 1902.

Digitized by Google

3. Ausser den genannten Mitteln sind zur Überführung der Indoxylverbindungen in Indigoblau noch eine grosse Reihe anderer vorgeschlagen worden: Salzsäure mit Wasserstoffsuperoxyd (Loubiou, Porcher und Hervieux), mit Persulfaten (Amann, Klett, Rossi), mit Kaliumchlorat (Stryzowski), Salzsäure mit Baryumsuperoxyd (Riegler), mit 2%igem Kaliumpermanganat und Schwefelkohlenstoff als Ausschüttelungsmittel (Stange), mit 1%iger Osmiumsäure (Gürber), mit Kupfersulfat (Salkowski, Imabuchi), Schwefelsäure mit Eisenchlorid (Graziani), Obermayers Reagens und nachheriger Zusatz von Schwefelsäure (Lavalle)[1]).

Einen Vorzug vor den Nachweis-Methoden von Jaffe und Obermayer dürften diese Modifikationen kaum verdienen (Slowzow)[2]).

4. Die blosse Zersetzung des Indicans durch konzentrierte Schwefelsäure (Heller) oder durch Salzsäure in gelinder Wärme (Stokvis) schliesst zwar die Gefahr einer zu weit gehenden Oxydation des Indicans aus, liefert aber weniger Indigfarbstoff und neben dem Indigblau auch Indigrot.

In allen diesen Fällen beweist das Auftreten der blauen Farbe allein die Anwesenheit des Indigblaus; die spektroskopische Untersuchung kann in zweifelhaften Fällen zur Bestätigung herangezogen werden. Wenn es darauf ankommt, kann man dem Chloroform beigemischtes Urobilin durch Schütteln mit verdünntem Ammoniak oder Natriumcarbonat entziehen.

Enthält der Harn Jodide, so färbt das bei der Probe freiwerdende Jod das Chloroform violett; man beseitigt dieses nach Renault durch nachträglichen Zusatz einer Lösung von unterschwefligsaurem Natron. — Nach der Verabreichung von Thymol wird der Harn nach Blum[3]) auf Zusatz von Salzsäure allein blaugrün; er enthält ein in Äther unlösliches, in Alkohol lösliches Chromogen, dessen alkoholische Lösung mit Salzsäure blau und darauf bei Übersättigen mit Alkali purpurrot wird.

5. Bouma empfiehlt die Abscheidung und Ausschüttelung (s. B. 5.) des Indigorot mittels Isatin-Salzsäure als Nachweis- und Bestimmungsmethode.

6. Nach Nicolas[4]) verbindet sich Indoxyl mit Furfurol bei Gegenwart von Säuren zu einem Kondensationsprodukt, dessen Lösungen in Chloroform, Benzol und Schwefelkohlenstoff schön grün fluoreszieren.

[1]) A. Loubiou, Rev. chim. anal. appl. **5**. 61. 1897; Jahresber. f. Tierch. **27**. 323. — Ch. Porcher u. Ch. Hervieux, Ztschr. f. physiol. Ch. **39**. 146. 1903. — P. Amann, Rev. méd. de la Suisse rom. 1897; Jahresb. f. Tierch. **28**. 309. — A. Klett, Chemiker-Ztg. 1900. 690. — L. Rossi, Gaz. chim. ital. **36**. II. 877. 1907; Jahresb. f. Tierch. **37**. 335. — C. Stryzowski, Österr. Chemiker-Ztg. **4**. 465. 1901; Jahresb. f. Tierch. **31**. 443. — E. Riegler, Pharmac. Zentralhalle **44**. 567. 1903; Jahresb. f. Tierch. **33**. 444. — A. Stange, Farmaz. Westn. 1904. 8. 294; Jahresb. f. Tierch. **34**. 392. — A. Gürber, Münch. med. Woch. **52**. 1578. 1905. — E. Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. **57**. 520. 1909. — T. Imabuchi, Ztschr. f. physiol. Ch. **60**. 502. 1909. — Graziani, Riforma medica 1898. Nr. 181. 182; Jahresb. f. Tierch. **28**. 276. — F. O. Lavalle, Chemiker-Ztg. **30**. 1251. 1906.

[2]) B. Slowzow, Russky Wratsch 1907. 256; Jahresb. f. Tierch. **37**. 334.

[3]) L. Renault, Chem. Zentralbl. 1888. 500. — F. Blum, Deutsche med. Wochenschr. 1891. 186.

[4]) E. Nicolas, Compt. rend. Soc. Biol. **58**. I. 183. 1906.

Digitized by Google

Man kann dem Harn direkt das gleiche Volum einer konzentrierten Salzsäure zusetzen, die ganz geringe Mengen Furfurol enthält, der Harn nimmt dann eine mehr oder weniger tiefgelbe Färbung an und beim Umschwenken mit Schwefelkohlenstoff nimmt dieser die grüne Fluoreszenz an.

Die Reaktion vollzieht sich schnell und in der Kälte, sie soll nach ihrem Autor ganz eindeutig sein.

E. Bestimmungsmethoden.

Die im folgenden zu beschreibenden Methoden beruhen alle auf einer Überführung des aus dem Harn durch Salzsäure freigemachten Indoxyls in Indigo. Entweder wird durch Zusatz eines Oxydationsmittels (Eisenchlorid, Kupfersulfat) im wesentlichen Indigoblau oder durch Erwärmen mit Isatin-Salzsäure Indigorot gebildet. Der Farbstoff wird mit Chloroform ausgeschüttelt, die Chloroformlösung oder der daraus gewonnene Rückstand einer Reinigung unterzogen, über deren zweckmässigste Gestaltung viel diskutiert worden ist (Wang, Bouma, Ellinger, Maillard), und der Farbstoffgehalt der Chloroformlösung wird entweder kolorimetrisch bzw. spektrophotometrisch bestimmt, oder der gebildete Indigo wird durch Auflösen in konzentrierter Schwefelsäure in Sulfosäure übergeführt und mit Kaliumpermanganat titrimetrisch bestimmt. Der Rückstand der gereinigten Chloroformlösung kann natürlich auch durch Wägung bestimmt werden.

Das von F. Mohr zur Wertbestimmung des Indigos in der Technik zuerst verwandte Titrationsverfahren ist von Wang in die Harnchemie eingeführt worden und von Ellinger an reinen Lösungen von indoxylschwefelsaurem Kalium auf seine Fehlergrenzen geprüft worden. Bei Anwendung des unten beschriebenen Reinigungsverfahrens, das wie in besonderen, nicht veröffentlichten Versuchen festgestellt wurde, mit dem gleichen Resultate durch das Maillardsche ersetzt werden kann, ergab sich ein Verlust von 15% im Durchschnitt. Dieser Verlust beruht jedenfalls zum erheblichen Teil auf der Überoxydation von Indoxyl bis zu Isatin, dessen Bildung nachgewiesen werden konnte. Ein Teil des gebildeten Isatins wird wahrscheinlich zur Bildung von Indigorot benutzt, das bei der Oxydation nach Obermayer stets neben Indigoblau gefunden wird. Ob andere Oxydationsmittel die Überoxydation verringern oder ausschliessen, ist nicht geprüft. Der Fehler der Überoxydation kommt natürlich gleichermassen in Betracht, ob man den Indigo titrimetrisch, mit der Wage oder einer optischen Methode bestimmt.

Digitized by Google

Die Bestimmung als Indigorot nach Bouma gibt höhere Werte, leidet aber an der Unsicherheit, dass sie nicht mit reinen indoxylschwefelsauren Salzlösungen geprüft ist. Die kolorimetrische Bestimmung als Indigorot nach Bouma kann als Schätzungsmethode für klinische Zwecke gute Dienste leisten, wenn der Farbenton der aus dem Harn gewonnenen Indigorotlösung hinreichend rein ist, um einen sicheren Vergleich mit den Standardröhrchen zu gestatten. Dies ist aber infolge der öfter auftretenden blauvioletten Töne nicht immer der Fall.

Da man weder bei der Überführung in Indigoblau noch bei der in Indigorot die Garantie hat, einen einheitlichen Farbstoff zu erhalten, so sind die optischen Methoden unsicher.

1. Titrimetrische Bestimmung des Indigoblaus.

A. Erfordernisse.

1. Bleiessig (Liquor plumbi subacetici).

2. Obermayers Reagens, d. i. reine Salzsäure, vom spez. Gew. 1,19, die im Liter 2—4 g festes Eisenchlorid enthält.

3. Reine konzentrierte Schwefelsäure, die Kaliumpermanganat nicht entfärben darf.

4. Chloroform.

5. 0,1%ige Natronlauge.

6. Eine annähernd $n/_{20}$-Kaliumpermanganat-Stammlösung (ca. 3 g in 1 Liter). Von der Stammlösung werden 5 ccm mit Wasser auf 200 ccm verdünnt. Der Titer dieser Lösung wird auf reinen käuflichen Indigo eingestellt; 1 ccm entspricht etwa 0,15 mg Indigo.

Ausführung. Der sauer reagierende oder mit Essigsäure schwach angesäuerte Harn (bei einem spez. Gewicht über 1040 nach Verdünnung mit dem gleichen Volum Wasser) wird mit $^1/_{10}$ Volum Bleiessig gefällt und filtriert. Vom Filtrat wird ein je nach dem Ausfall der qualitativen Probe variierendes Volum abgemessen. Zumeist werden 100 oder 50 ccm zur Bestimmung verwandt. Als Kriterium für die zu wählende Menge gelte, dass 3—4 Ausschüttelungen des mit dem gleichen Volumen Obermayers Reagens versetzten Harnfiltrats mit je etwa 30 ccm Chloroform von 2 Minuten Dauer genügen, um allen Indigo in Lösung zu bringen. Die Ausschüttelungen werden in einem Scheidetrichter so lange fortgesetzt, bis das Chloroform sich nicht mehr färbt.

Man vereinigt die abgelassenen Chloroformlösungen in einem zweiten Schütteltrichter, und lässt sie darin einige Minuten stehen,

Digitized by Google

damit mitgerissene Harntröpfchen sich abscheiden bzw. an dem Glase haften bleiben (Imabuchi), filtriert die Chloroformauszüge durch ein kleines trockenes Filter, das mit Chloroform sorgfältig nachzuwaschen ist, in einen trockenen, sorgfältig gereinigten Kolben.

Die Reinigung der Chloroformauszüge kann auf zwei Weisen ausgeführt werden:

a) Man destilliert das Chloroform auf dem Wasserbad ab und trocknet den Rückstand noch etwa 5 Minuten auf dem Wasserbad im liegenden Kolben. Der Rückstand wird 3—4 mal mit heissem Wasser ausgewaschen, indem man jedesmal ca. 30 ccm Wasser der Wand entlang eingiesst, leicht umschwenkt, einige Minuten stehen lässt und das Wasser abgiesst. Das letzte Waschwasser soll Kaliumpermanganatlösung nicht entfärben (Ellinger, Imabuchi). Sollte bei dem Waschen eine Loslösung von Indigopartikelchen erfolgt sein, was bei richtiger Ausführung der Waschung nur sehr selten vorkommt, so muss das Waschwasser durch ein kleines Filterchen filtriert und der Filterrückstand nach Trocknen des Filters mit Chloroform extrahiert werden. Der Rückstand eines solchen zweiten Chloroformauszugs wird dann ohne nochmaliges Waschen in konzentrierter Schwefelsäure gelöst und mit der Hauptmenge vereinigt.

b) Die vereinigten Chloroformausschüttelungen werden in einem Scheidetrichter zunächst mit Wasser, dann mit 1%iger Natronlauge, dann wieder mit Wasser gewaschen (Maillard). Da salzsäurehaltiges Chloroform mehr Indigo löst als reines, so kann bei diesen Waschungen durch Entziehung der Salzsäure sich aus konzentrierten Lösungen etwas Indigo abscheiden, der dann schwer aus dem Schütteltrichter quantitativ zu entfernen ist. Man fügt deshalb zu stark gefärbten Chloroformlösungen vor dem Waschen noch reichlich Chloroform hinzu, so dass die Abscheidung vermieden wird. Die so gereinigte Chloroformlösung wird wie bei a) filtriert, abdestilliert, getrocknet und dann nicht mehr gewaschen.

Der Indigo im Kolben wird mit 10 ccm reiner konzentrierter Schwefelsäure aufgenommen und zur vollständigen Lösung 5—10 Min. auf dem kochenden Wasserbad erwärmt. Die Schwefelsäurelösung wird in einen sorgfältig gereinigten Erlenmeyer-Kolben gegossen, in dem sich 100 ccm destilliertes Wasser befinden und mit destilliertem Wasser in den Kolben nachgespült. Die blaue Lösung ist fast stets vollständig klar, eine geringe Trübung erschwert das Erkennen des Endpunkts der Titration, macht die Bestimmung aber nicht unmöglich.

Die heisse Lösung der Sulfosäure wird mit der $n/_{400}$-Kaliumpermanganatlösung titriert. Da neben dem Indigoblau stets Indigorot

zugegen ist, so wird die Flüssigkeit nach Verschwinden des grünen Farbentons zunächst rot. Als Endpunkt der Titration gilt der Umschlag des rötlichen Farbentons in reines Gelb.

Zu der aus dem Kaliumpermanganatverbrauch ermittelten Indigomenge ist noch $^1/_6$ des Wertes zu addieren mit Rücksicht auf die von Ellinger ermittelten Verluste.

Modifikation von Imabuchi[1]).

50 ccm Harnfiltrat werden mit 1—2 ccm 10%iger Kupfersulfatlösung und 50 ccm Salzsäure (D = 1,19) statt mit Obermayers Reagens versetzt. Die Ausschüttelung erfolgt erst nach 5—10 Minuten. Im übrigen wird wie oben verfahren. Die Waschung führt Imabuchi nach der Vorschrift von Ellinger (a) aus. Die Schwefelsäurelösung wird nach dem Erkalten mit 100 ccm Wasser verdünnt und titriert.

Vergleichsbestimmungen mit der älteren Methode ergeben, dass nach Imabuchi 2—5% Indigo mehr gefunden werden.

2. Wägung des Indigoblaus.

Die ältesten quantitativen Indigobestimmungen sind von Jaffe[2]) durch Wägung des Niederschlags ausgeführt, der in einer wässerigen Lösung des gereinigten alkoholischen Harnextrakts mit Salzsäure und aus der optimalen Menge Chlorkalklösung erhalten wurde. Der Niederschlag wurde auf ein gewogenes Filter gebracht, nacheinander mit kaltem und heissem Wasser, mit verdünntem heissem Ammoniak und schliesslich nochmals mit Wasser gewaschen, bei 105—110° getrocknet und gewogen.

Statt dieser mit mancherlei Fehlern behafteten Methode dürfte es sich mehr empfehlen, den Rückstand der Chloroformlösung, der nach Methode 1 titriert wird, nach der Reinigung zu wägen, wobei dann grössere Mengen Harnfiltrat verarbeitet werden müssen, damit die Wägefehler nicht zu sehr ins Gewicht fallen.

3. Kolorimetrische Bestimmung des Indigoblaus.

Von verschiedenen Autoren (Salkowski, Krauss, Adrian, Strauss)[3]) sind kolorimetrische Verfahren angewendet worden. Die

[1]) T. Imabuchi, Ztschr. f. physiol. Ch. **60**. 502. 1909.
[2]) M. Jaffe, Pflügers Archiv **3**. 448. 1870.
[3]) E. Salkowski, Virchows Arch. **68**. 407. 1876. — E. Krauss, Ztschr. f. physiol. Ch. **18**. 172. 1893. — C. Adrian, ebenda **19**. 126. 1894. — H. Strauss, Deutsche med. Wochenschr. 1902. 299.

Digitized by Google

Farbe der Chloroformlösungen wird entweder mit der von Indigolösungen bekannten Gehalts, die man in zugeschmolzenen Röhren einige Zeit aufbewahren kann, ohne dass sie ihre Farbe verändern, verglichen, oder die erhaltenen Chloroformlösungen werden so lange mit abgemessenen Mengen Chloroform verdünnt, bis ihre Farbe gleich der einer Vergleichslösung von bestimmtem Gehalt geworden ist.

Bauer[1]) hat eine Farbentafel entworfen, deren einzelne Farben verschieden konzentrierten Chloroformlösungen von Indigoblau entsprechen. Mit den Farben der Tafel werden die der Chloroformausschüttelungen des Pferdeharns verglichen. Für den indicanreichen Pferdeharn soll das Verfahren eine klinisch brauchbare Schätzung ermöglichen.

Zu annähernden Bestimmungen für klinische Zwecke sind die kolorimetrischen Methoden brauchbar. Sie leiden aber an dem Übelstande, dass die Chloroformlösungen aus dem Harn stets Indigorot neben dem Blau enthalten und dadurch der Vergleich mit reinen Indigoblaulösungen erschwert wird. Am besten lassen sich die kolorimetrischen Vergleiche mit solchen Chloroformlösungen anstellen, die nicht eingeengt und die nach Maillard gewaschen sind. Denn beim Eindampfen der noch säurehaltigen Chloroformlösungen nimmt die Rotfärbung zu. Für die Gründe dieser Farbenänderung vgl. die Arbeiten von Bouma, Maillard und Ellinger.

4. Spektrophotometrische Bestimmung des Indigoblaus nach F. Müller[2]).

Die Chloroformauszüge werden auf ein rundes Volumen gebracht und ihr Gehalt an Indigo spektophotometrisch bestimmt (s. S. 48 ff.). Der sensible Spektralbezirk liegt in C 52 D — C 95 D. Zur Berechnung der Konzentration (Gramm Substanz im Kubikzentimeter) nach $c = A\varepsilon$ ist die Kenntnis des Absorptionsverhältnisses, der Konstanten A, erforderlich. Diese bestimmte Müller mit ganz reinem krystallinischem Indigo zu 0,0 000 194.

Gegen die spektrophotometrische Methode gelten die gleichen Einwände wie gegen die kolorimetrischen Bestimmungen.

5. Titration des Indigrots (Bouma)[3]).

A. Erfordernisse.

1. Bleiessig.
2. Lösung von 20 mg Isatin in 1 Liter reiner konzentrierter Salzsäure vom spez. Gew. 1.19 (jeden Monat frisch zu bereiten).

[1]) E. Bauer, Nachweis und Bedeutung des Indicans im Pferdeharn. Inaug.-Diss. Giessen 1905.

[2]) F. Müller, Mitteilungen aus der med. Klinik zu Würzburg. 2. 344. 1886.

[3]) J. Bouma, Ztschr. f. physiol. Ch. 32. 82. 1901.

Digitized by Google

3. Chloroform.
4. Reine konzentrierte Schwefelsäure.
5. Kaliumpermanganat-Lösung, die nicht verdünnter als 1 : 20000 sein darf. Sie wird auf reines, synthetisches Indigorot der Badischen Anilin- und Sodafabrik eingestellt; 1 ccm soll etwa 0,2 mg Indigo entsprechen.

B. Ausführung. Der Harn wird mit Bleiessig (1 Vol. auf 10 Vol. Harn) gefällt, ein Teil des klaren Filtrats (etwa 40 ccm, entsprechend 400 Harn) mit dem gleichen Volum Isatin-Salzsäure versetzt und auf dem kochenden Wasserbade eine Viertelstunde erhitzt; das Gemisch färbt sich dabei gewöhnlich dunkelrot. Indicanreiche Urine, d. h. solche, die beim Kochen von 5 ccm Harn mit 5 ccm Reagens und Ausschütteln mit 2 ccm Chloroform dieses dunkelweinrot färben, werden zur Bestimmung mit Wasser verdünnt.

Nach dem Erhitzen wird die Flüssigkeit abgekühlt, im Scheidetrichter mit Chloroform ausgeschüttelt und das Chloroform in eine Schale abgelassen. Man lässt die Chloroformlösung einige Minuten ruhig stehen, damit beigemengte Harntröpfchen sich an der Schalenwand absetzen, giesst vorsichtig in eine andere Schale ab, verdunstet das Chloroform, trocknet den Rückstand 2 Stunden bei 110° und extrahiert ihn zur Entfernung des überschüssigen Isatins mit heissem Wasser, bis die abgegossene Flüssigkeit nicht mehr reduziert. Der gereinigte Rückstand wird in konzentrierter Schwefelsäure gelöst, mit Wasser verdünnt und mit der Permanganatlösung bis zum Umschlag der roten Farbe in Gelb titriert.

Die Sulfosäurelösung muss ganz klar sein; ist sie getrübt, so filtriert man durch ein kleines, trockenes Filter und titriert einen aliquoten Teil des Filtrats. Die zuerst durchfiltrierten 20—30 ccm bleiben unbenutzt, weil zunächst vom Filter etwas Indigo zurückgehalten wird. Es empfiehlt sich während der Titration dann und wann ein wenig starke Schwefelsäure zuzugeben, um die Abscheidung von Mangansuperoxyd zu vermeiden.

Ein Molekül Indoxyl liefert bei diesem Verfahren mit einem Molekül Isatin 1 Molekül Indigorot, während bei den Bestimmungen als Indigoblau 2 Moleküle Indoxyl 1 Molekül Indigo bilden.

Die Methode liefert nach Bouma[1]) ungefähr um 10 % höhere Werte als die unter 1. beschriebene.

6. Kolorimetrische Bestimmung des Indigrots.

Zur annähernden Bestimmung des Indoxyls für klinische Zwecke hat Bouma[1]) ein „Indicanurometer" zusammengestellt, welches aus 11 in einer Reihe geordneten Reagenzröhrchen von gleichem Durchmesser und gleicher Wanddicke besteht. Sechs dieser Röhrchen enthalten eine Lösung von aus Harn bereitetem Indigorot

[1]) J. Bouma, Ztschr. f. physiol. Ch. **39**. 372. 1903.

Digitized by Google

in Chloroform oder absolutem Alkohol von verschiedener Stärke, die der Reihe nach übereinstimmt mit einem Gehalt des Harns an Indigo von 5, 10, 15, 20, 30, 40 mg per Liter. Die Röhrchen wurden nach der Füllung zugeschmolzen. Im Gestell des Apparates ist zwischen je 2 Standardröhrchen Raum offen gelassen für das Hinstellen eines Proberöhrchens, um die Farbenvergleichung zu erleichtern. Die Proberöhrchen haben eine Marke bei 5½, 15½ und 20½ ccm. Der Apparat ist vor Licht geschützt aufzubewahren.

Man fällt 20 ccm Harn mit 2 ccm Bleiessig, filtriert durch ein trockenes Filter, giesst $5^1/_2$ ccm (entsprechend 5 ccm Harn) des Filtrats in ein Proberöhrchen und fügt 10 ccm Isatinsalzsäure zu. Bei indicanreichen Harnen verdünnt man vorher mit einem abgemessenen Quantum Wasser. Man erhitzt bis zum Sieden, kocht einige Sekunden lang, kühlt ab und schüttelt mit 5 ccm Chloroform aus. Die Chloroformlösung wird zwischen die Standardröhrchen einrangiert, mit denen sie in der Farbe am besten übereinstimmt.

Bei Anwesenheit oxydierender Substanzen erhält man nach Bouma[1]) beim Kochen des Harns mit Isatinsalzsäure eine zur Kolorimetrie ungeeignete Mischung von Indigoblau mit Indigorot. In solchen Fällen empfiehlt er durch das Harnfiltrat ¼ Stunde lang Schwefelwasserstoff langsam durchzuleiten, vom Bleisulfid durch ein trockenes Filter zu filtrieren und das Filtrat in der angegebenen Weise zu prüfen.

Nach meinen Erfahrungen gelingt es öfter auch nach diesem Verfahren nicht, vergleichbare Farbentöne zu erhalten. In vielen Fällen erwies sich dagegen die Boumasche Methode für klinische Bestimmungen brauchbar.

Oerum[2]) empfiehlt das nach Bouma gewonnene Indigorot in dem in der Zeitschrift für analytische Chemie Bd. 43, S. 178 beschriebenen Meislingschen Kolorimeter zu bestimmen.

7. Kolorimetrische Bestimmung nach Montfet[3]).

A. Prinzip: Das aus dem Indoxyl durch Oxydation entstandene Indigoblau wird durch Erhitzen mit Salpetersäure oxydiert, indem sukzessive Isatin, Nitrosalicylsäure und Pikrinsäure entsteht. Diese wird als Kaliumpikrat kolorimetrisch bestimmt.

B. Ausführung: 100 ccm Urin werden mit 100 ccm Salzsäure und 50 ccm Wasserstoffsuperoxydlösung auf 50° erhitzt und mit je 40—50 ccm Chloroform vorsichtig, um Emulsionsbildung zu vermeiden, erschöpfend ausgeschüttelt. Das Chloroform wird abgedampft, und der Rückstand mit 50 ccm Wasser und 5 ccm Salpetersäure 5 Min. bis annähernd zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen macht man mit konzentrierter Kaliumcarbonatlösung alkalisch, füllt mit Wasser auf 100 ccm auf und bestimmt das Kaliumpikrat kolorimetrisch nach Montfet[4]), indem man die Lösung mit Kaliumpikratlösungen, die aus einer bestimmten Menge Phenol bereitet sind, vergleicht. Die Umrechnung auf Indigo erfolgt, indem man den Phenolwert mit 1,4 multipliziert.

Kontrollbestimmungen sind in der kurzen Veröffentlichung von Montfet nicht mitgeteilt.

[1]) J. Bouma, Deutsche med. Wochenschr. 28. 705. 1902.
[2]) H. P. T. Oerum, Ztschr. f. physiol. Ch. 45. 459.1905.
[3]) L. Montfet, Compt. rend. Soc. Biol. 55. 1251. 1902.
[4]) L. Montfet, Compt. rend. Acad. d. scienc. 137. 386. 1903.

Digitized by Google

Umwandlungsprodukte des Skatols.

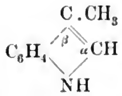
Nach der Einverleibung von Skatol, wie sie von Brieger vorgenommen worden ist, soll bei Hunden, Kaninchen und Fröschen eine Ätherschwefelsäure auftreten, welche sich ganz ähnlich wie die Indoxylschwefelsäure verhält, von ihr aber verschieden ist und die deshalb, wiewohl ihre Zusammensetzung nicht bekannt ist, als Skatoxylschwefelsäure bezeichnet wurde. In ähnlichen Versuchen sah Mester[1]) zwar anfangs auch viel Ätherschwefelsäure auftreten, später aber ein anderes Skatolderivat, vielleicht Skatoxylglycuronsäure. Auch spätere Beobachter (Grosser, Staal, s. Skatolrot) kamen hinsichtlich der Vermehrung der Ätherschwefelsäuren nach Skatolgaben nicht zu klaren Resultaten.

Ob im normalen Harn Skatolderivate vorkommen, ist zweifelhaft, wiewohl das Skatol einen konstanten Bestandteil der menschlichen Fäces bildet. Denn das einzige Anzeichen hierfür, das Auftreten eines sonst nicht näher charakterisierten roten Farbstoffs bei der Anstellung der Indicanprobe, kann auch auf die Bildung von Indigrot bezogen werden.

Aus dem Harn eines an Verdauungsstörungen leidenden Diabetischen hat Otto[2]) nach dem Baumann-Briegerschen Verfahren zur Darstellung des indoxylschwefelsauren Kalis ein in zusammenhängenden, kleinen Knollen krystallisierendes Salz dargestellt, das er als skatoxylschwefelsaures Kali ansprach, weil das Resultat einer Schwefelsäure- und zweier Stickstoffbestimmungen auf die angenommene Verbindung stimmte.

Die Charakterisierung der Substanz durch Otto genügt indessen nicht zum Beweise, dass es sich um skatoxylschwefelsaures Kali handelt. Er gibt nur an, dass die Krystalle bei trockenem Erhitzen rote Dämpfe entwickelten und das Residuum mit Chlorbaryum Baryumsulfat gab, dass ihre wässerige Lösung sich mit konzentrierter Salzsäure rot, mit Eisenchlorid violett und mit Salpetersäure rot färbte.

Übrigens hat schon Mester darauf hingewiesen, dass, wenn eine Skatoxylschwefelsäure existiert, sie nicht vollkommen analog der Indoxylschwefelsäure zusammengesetzt sein kann. Da dem Skatol die Formel



[1]) L. Brieger, Ber. d. chem. Gesellsch. **10**. 1031. 1877; **12**. 1985. 1879; Ztschr. f. physiol. Ch. 4. 416. — B. Mester, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 130. 1888.
[2]) Jac. G. Otto, Pflügers Archiv **33**. 615. 1884.

Digitized by Google

zukommt, so müsste die Oxydation entweder am α-Kohlenstoff-Atom des Pyrrolrings oder an der Methylgruppe eingetreten sein, während im Indoxyl die Hydroxylgruppe sich am β-Kohlenstoff-Atom des Pyrrolrings befindet.

Weiteres über Skatolumwandlungsprodukte s. bei Skatolrot im Kap. „Farbstoffe".

Säuren.

Benzoesäure.

$C_6H_5 . COOH$.

A. Vorkommen. Die Benzoesäure ist von Bedeutung als Muttersubstanz und Zersetzungsprodukt der Hippursäure. Namentlich in alkalischem und eiweisshaltigem Urin tritt ausserordentlich leicht ein Zerfall der Hippursäure in Benzoesäure und Glycocoll ein, die nach van de Velde und Stockvis wohl zum Teil durch nicht organisierte Fermente bewirkt wird. Bei Anwesenheit von bestimmten Bakterien, namentlich Staphylokokken, kann die Zersetzung quantitativ sehr weit gehen (Seo)[1].

Ob im normalen Harn ohne vorausgegangenen Genuss von Benzoesäure oder solchen Substanzen, die im Organismus in Benzoesäure übergehen (s. das Kap. „Körperfremde Stoffe"), die Säure ungepaart ausgeschieden wird, ist noch nicht ganz sicher. Nach Seo findet sich im frischen, sterilen Menschenharn, nach Riecke im Harn des Hammels und nach Steenbock im Kuhharn keine freie Benzoesäure, dagegen fand Wiechowski selbst im sauren Harn von Kaninchen stets einige mg freie Benzoesäure. Doch fehlen Angaben darüber, ob der untersuchte Harn steril und so eine sekundäre Entstehung ausgeschlossen war. Die Verschiedenheit der Befunde erklärt sich zum Teil vielleicht auch daraus, dass Hippursäure bei längerem Erhitzen auf dem Wasserbade in schwach alkalischer, selbst sodaalkalischer Lösung teilweise hydrolysiert wird (Folin und Flanders[2]).

B. Eigenschaften. 1. Die sublimierte Benzoesäure erscheint in farblosen, glänzenden, feinen Nadeln und Plättchen, die aus ihren Salzen durch Säure abgeschiedene dagegen in Schuppen, schmalen Säulen oder sechsseitigen Nadeln, deren Grundform ein gerades rhombisches Prisma ist. Beim Erkalten wässeriger Lösungen erscheinen die Krystalle immer als aneinander gereihte, auch wohl übereinander liegende Tafeln von genau 90°; in seltenen Fällen findet sich ein Winkel abgestutzt; häufig erscheinen die Ränder wie angenagt.

[1]) A. van de Velde u. B. Stockvis, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. 17. 189. 1893. — Y. Seo, ebenda. 58. 440. 1908.

[2]) R. Riecke, Über die Bildung der Hippursäure im tierischen Organismus. Inaug.-Diss. Breslau (phil. Fak.). Wolfenbüttel 1903. — H. Steenbock, Journ. of biolog. chem. 11. 201. 1912. — W. Wiechowski, Hofmeisters Beiträge 7. 204. 1905. — O. Folin und F. F. Flanders, Journ. of biol. chem. 11. 257 1912.

Digitized by Google

2. Sie sublimiert bei 100 °, schmilzt bei 121,4 ° und siedet bei 249 ° unzersetzt, ihre Dämpfe kondensieren sich und reizen zum Husten. In kaltem Wasser ist sie schwer (1 Tl. in 370 Tln.), leichter (in 10facher Menge) in heissem löslich; Alkohol, Äthyläther, Essigäther, Benzol, Chloroform nehmen sie leicht auf, Petroläther aber schlecht; nach Stellwag [1]) löst sie sich in 7 Teilen Äthyläther und in ungefähr 1000 Teilen Petroläther. Ihre Lösungen röten Lackmus. Sie verflüchtigt sich mit Wasserdämpfen.

3. Die Benzoesäure ist einbasisch. Ihre Salze sind meistens in Wasser löslich, das Silber-, Blei- und Quecksilbersalz sind schwer löslich. Die benzoesauren Alkalien lösen sich auch in Alkohol. — Säuren fällen aus den Benzoaten die Benzoësäure in glänzenden, weissen Schuppen.

4. Eisenchlorid erzeugt in der Lösung der benzoesauren Salze einen bräunlich gelben Niederschlag von benzoesaurem Eisenoxyd, der durch Ammoniak unter Abscheidung von Eisenhydroxyd und benzoesaurem Ammon, durch Salzsäure unter Abscheidung von Benzoesäure und Eisenchlorid zersetzt wird.

5. Erhitzt man Spuren von Benzoesäure mit einigen Tropfen absoluten Alkohols und einem Tropfen konzentrierter Schwefelsäure, so tritt der charakteristische, aromatische Geruch des Benzoesäure-Äthylesters auf, der namentlich nach Zusatz von Wasser und nochmaligem Erhitzen deutlich wird.

6. In einer klaren Mischung von Weingeist, Chlorbaryumlösung und Ammoniak bewirkt weder Benzoesäure noch benzoesaures Salz einen Niederschlag (Unterschied von Bernsteinsäure).

7. Verdampft man Benzoesäure mit etwas Salpetersäure kochend in einer kleinen Schale, so entwickelt sich, sobald man den Rückstand stärker erhitzt, der Geruch nach Bittermandelöl (Nitrobenzol).

8. Beim Kochen mit alkalischer Natriumhypobromitlösung gibt sie im Gegensatz zur Hippursäure keinen kermesfarbenen Niederschlag (Denigès) [2]).

C. Nachweis und Darstellung. Die Benzoesäure wird aus dem Harn nach denselben Methoden abgeschieden, wie die Hippursäure (s. diese); sie findet sich dann entweder allein oder neben dieser vor, und wird von der Hippursäure durch Petroläther getrennt, in welchem sich die Benzoesäure löst, die Hippursäure dagegen nicht. Beim Verdunsten des Petroläthers bleibt die Benzoesäure krystallinisch zurück. Der Petroläther muss frisch destilliert sein, weil die Benzoesäure sonst leicht stark gefärbt erhalten wird (Th. Weyl u. B. v. Anrep). — Um die flüchtige Benzoesäure nicht zu verlieren, lässt man ihre Lösungen bei Zimmertemperatur verdunsten. Ausserordentlich beschleunigt wird die Verdunstung, wenn man nach G. Vulpius den kurzen Schenkel eines Hebers dem Spiegel der Flüssigkeit bis auf 1 cm nähert und den langen Schenkel ansaugt; der kurze Schenkel soll nicht länger sein, als das Gefäss tief ist.

Nach Dakin [3]) extrahiert man den frischen, mit Phosphorsäure stark angesäuerten Urin in einem Extraktionsapparat erschöpfend mit Benzol, schüttelt den Benzolextrakt kräftig mit einer kleinen Menge wässeriger Natronlauge, die die Benzoesäure aufnimmt. Ist viel Benzoesäure vorhanden, so fällt sie aus der alkalischen Lösung beim Ansäuern sofort aus. Entsteht kein Niederschlag, so schüttelt man die angesäuerte Lösung mit Äther aus, verdunstet den Äther und prüft den Rückstand auf Benzoesäure. —

Von etwa gleichzeitig vorhandener Bernsteinsäure trennt man die Benzoesäure dadurch, dass man beide Säuren in ihre Barytsalze verwandelt und diese mit siedendem Alkohol behandelt, in welchem sich das benzoesaure Salz löst. Aus dem Barytsalz lässt sich die Benzoesäure leicht durch Salzsäure abscheiden.

Man erkennt die Benzoesäure an ihrer Krystallform und ihrem Verhalten bei der trockenen Destillation (im Reagenzglas), wodurch sie sich von der Hippursäure scharf unterscheidet (B. 1 u. 2). Die Bildung von Nitrobenzol (B. 7) und die Esterifizierung (B. 5) dienen zur Bestätigung.

[1]) A. Stellwag, Landwirtsch. Versuchsstationen **37**. 136. 1890.
[2]) G. Denigès, Comptes rendus **107**. 662.
[3]) H. D. Dakin, Journ. of biol. chem. 7. 107. 1909.

Digitized by Google

D. Bestimmung der im Harn präformierten Benzoesäure s. bei Bestimmung der Hippursäure. S. 828 ff.

Hippursäure.

$C_9H_9NO_3$.

$C_6H_5 . CO . NH . CH_2 . COOH$.

Syn. Benzoylglycocoll.

Synthetisch erhält man Hippursäure leicht nach Baum [1]) wie folgt. Man löst Glycocoll in wenig Wasser, fügt einige Tropfen Natronlauge zu und schüttelt mit Benzoylchlorid, das allmählich im Überschuss zugesetzt wird. Schliesslich macht man mit Natronlauge stark alkalisch. Durch Ansäuern mit Salzsäure erhält man ein Gemisch von Hippursäure und Benzoesäure, das nach den unten beschriebenen Methoden getrennt werden kann.

A. Vorkommen. Im menschlichen Harn kommen etwa 0,1 bis 2 g Hippursäure in der Tagesmenge vor (Lewin)[2]). Bei Pflanzenfressern ist sie oft der in grösster Menge vorkommende stickstoffhaltige Harnbestandteil. In 1 Liter Kuhharn finden sich je nach der Fütterung Mengen von 4—27 g.

Auch bei reiner Fleischkost und im Hunger fehlt sie nicht im Harn; beim Fleischfresser ist die Hippursäurebildung nach Baumann ausschliesslich abhängig von der Eiweissfäulnis im Darm, da die hierbei entstehende Phenylpropionsäure als Hippursäure im Harn erscheint (E. u. H. Salkowski). Von Henneberg veranlasste ausgedehnte Fütterungsversuche haben aber ergeben, dass bei Wiederkäuern die Hippursäureausscheidung zur Menge des verdauten Eiweisses in keinem Verhältnis steht. Die Untersuchungen von Meissner und Shepard u. a. lehren vielmehr, dass ein Bestandteil der Rohfaser an der Bildung der Hippursäure beteiligt ist und Götze und Pfeiffer[3]) haben gezeigt, dass beim Hammel die Beifütterung von Gummi die Menge der Hippursäure, entsprechend der Menge des Beifutters, um etwas erhöht.

Welche Substanzen in der Rohfaser die Quelle der Hippursäure sind, ist noch nicht völlig klargestellt. O. Loew hielt dafür die Chinasäure $C_6H . H_6(OH)_4 . COOH$, die vom Pflanzenfresser und vom Menschen, nicht aber vom Hunde als Hippursäure ausgeschieden wird (Stadelmann, Hupfer[4]). Riecke zeigte, dass aus der Rohfaser des Heues eine wasserlösliche Substanz zu erhalten ist, die bei Oxydation mit Kaliumpermanganat in alkalischer Lösung annähernd das Quantum Benzoesäure liefert, das der bei Verfütterung des Ausgangsmaterials an Hammel ausgeschiedenen Menge Hippursäure entspricht. Die Hippursäurevermehrung nach Zugabe von Kirschgummi (s. o.) ist wahrscheinlich auch auf die im Gummi enthaltenen Benzoesäure liefernden Substanzen und nicht auf Pentosane zu beziehen. Unter den

---

[1]) J. Baum, Ztschr. f. physiol. Ch. 9. 465. 1885.

[2]) K. Lewin, Ztschr. f. klin. Med. 42. 371. 1901.

[3]) E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. 10. 131. 1886. — E. u. H. Salkowski, ebenda 7. 168. 1882/83. — K. Götze u. Th. Pfeiffer, Landwirtsch. Versuchsstationen 47. 80. 1896.

[4]) O. Loew, Journ. f. prakt. Ch. 127. 309. 128. 476. 1879. — E. Stadelmann, Arch. f. exper. Path. u. Pharmak. 10. 317. 1879. — F. Hupfer, Ztschr. f. physiol. Ch. 37. 302. 1903.

Digitized by Google

Muttersubstanzen der Hippursäure aus der Rohfaser spielt vielleicht das Coniferin eine Rolle (Riecke).

Von wesentlicher Bedeutung scheint nach Haralamb Vasiliu[1]) bei den Pflanzenfressern auch der Phenylalaninkomplex der Eiweisskörper zu sein. Beim Menschen bewirkt Eingabe von Phenylalanin keine Hippursäure-Ausscheidung. Dagegen erscheint danach beim Hammel fast die Hälfte der theoretisch möglichen Menge Hippursäure im Harn. Inwieweit die Darmfäulnis und die intermediäre Entstehung von Phenylpropionsäure bei diesen Beobachtungen von Bedeutung ist, muss noch klargestellt werden.

Beim Menschen kommt für eine Vermehrung der Hippursäure-Ausscheidung hauptsächlich die Darmfäulnis — Lewin fand bei Perityphlitis über 2 g — und der Genuss von Obst, namentlich von Beeren in Betracht. Nach Jaarsveld und Stockvis soll bei parenchymatöser Nephritis und Amyloidniere die Fähigkeit der Niere Hippursäure synthetisch zu bilden vermindert sein, nach Sertoli und Lewinski[2]) gilt das jedenfalls nicht allgemein, dagegen soll sowohl bei Schrumpfniere wie bei parenchymatöser Nephritis die Ausscheidung verlangsamt sein.

Bei Hühnern wird Benzoesäure als Ornithursäure ausgeschieden (s. Kap. „Körperfremde Stoffe“).

B. Eigenschaften. 1. Die Hippursäure bildet milchweisse, halbdurchsichtige, vierseitige Prismen und Säulen, die an den Enden in zwei oder vier Flächen auslaufen und häufig zu Drusen vereinigt sind. Die Grundform ist immer ein vertikales rhombisches Prisma (Taf. I, Fig. 3 rechte obere Hälfte). Einzelne Formen haben zuweilen Ähnlichkeit mit den Krystallen der phosphorsauren Ammon-Magnesia, von der die Hippursäure jedoch durch ihr chemisches Verhalten leicht zu unterscheiden ist. Sie ist geruchlos und von schwach bitterlichem Geschmack. Schmelzpunkt 187,5^0. Sie löst sich in 600 Teilen Wasser von 0^0, viel leichter in heissem (Liebig); bei 60^0 scheidet sich der grösste Teil der in der Siedehitze gelösten Säure wieder aus (Curtius)[3]). Alkohol löst sie leicht, Äthyläther schwerer, Essigäther leichter als Äther, kochendes Chloroform sehr schwer (Curtius), Petroläther, Benzol, Schwefelkohlenstoff nicht. Die Lösungen röten Lackmus stark.

[1]) Haralamb-Vasiliu, Neue Untersuchungen über die Muttersubstanz der im Tierkörper erzeugten Hippursäure. Inaug.-Diss. Breslau 1906 u. Mitt. d. Landwirtsch. Inst. d. Univ. Breslau **4**. 374. 1908.

[2]) G. J. Jaarsveld u. B. J. Stockvis, Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. **10**. 268. 1879. — Sertoli, Gazz. degli ospedali e delle clin. 1898. Nr. 145 zit. n. Jahresber. f. Tierch. **28**. 299. — J. Lewinski, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **82**. 397 1908 (Lit.).

[3]) Curtius, Journ. f. prakt. Ch. [2] **26**. 149. 1882.

Digitized by Google

Nach Gonnermann[1]) löst sich 1 g Hippursäure bei ungefähr 18° in 77 ccm Essigsäure, 165 ccm Wasser, 400 ccm Äthyläther, 1 Ltr. Chloroform; sie löst sich ferner in 100 Ltr. kaltem und 10 Ltr. siedendem Benzol.

2. Sie vereinigt sich mit Basen, aber nicht mit Säuren zu Salzen. Ihre Verbindungen mit den Alkalien und alkalischen Erden sind in Wasser und in Alkohol löslich, ihr Silber-, Kupfer- und Bleisalz ist in Wasser schwer löslich, das Eisenoxydsalz ist unlöslich. Das Silbersalz krystallisiert aus heissem Wasser in weissen, seideglänzenden Nadeln, das Kobaltsalz krystallisiert gut und ist in Alkohol unlöslich (Loebisch)[2]). Säuren scheiden aus den Salzen die Hippursäure wieder in Krystallen ab.

Hippursaure Salze geben mit Eisenoxydsalzen einen isabellfarbenen, flockigen, selbst in heissem Wasser unlöslichen, in heissem Alkohol leicht löslichen Niederschlag. — Mit basisch essigsaurem Blei gibt sie einen Niederschlag, wird aber beim Kochen mit Bleihydrat nicht abgeschieden.

Nach Donath[3]) löst sich Hippursäure zu 1 Mol. in Na_2HPO_4, zu 2 Mol. in Na_3PO_4. Aus den stark sauer reagierenden Lösungen krystallisiert beim Verdunsten zuerst Hippursäure, welche sich dem Abdampfungsrückstand solcher Lösungen durch Alkohol entziehen lässt. Äther nimmt aus solchen Lösungen (alle) Hippursäure auf, auch dann noch, wenn die Lösung so viel Na_2HPO_4 enthält, dass sie entschieden alkalisch reagiert.

3. Der nach den üblichen Methoden darstellbare Äthylester der Hippursäure krystallisiert aus kochendem Wasser in langen Nadeln vom Schmelzpunkte 60,5°.

Erhitzt man Hippursäure mit einigen Tropfen Alkohol und 1—2 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure, so tritt Geruch nach Benzoesäureester auf.

4. Beim Kochen mit Laugen (aber nicht so leicht beim Kochen mit Kalkmilch), schneller noch beim Kochen mit Mineralsäuren, ferner bei anhaltendem Erhitzen mit Wasser auf 170—180° zerfällt die Hippursäure unter Wasseraufnahme in Benzoesäure und Glycocoll:

$$\underset{\text{Hippursäure.}}{C_6H_5.CO-HN.CH_2.COOH} + H_2O = \underset{\text{Benzoesäure.}}{C_6H_5.COOH} + \underset{\text{Glycocoll.}}{H_2N.CH_2.COOH}$$

Nach Folin und Flanders[4]) gelingt es durch 16stündiges Erhitzen mit 0.5%iger Natronlauge auf dem Wasserbade 0,2 g Hippursäure nahezu quantitativ zu spalten.

Bei 1stündigem Erhitzen von Hippursäure mit einer Lösung der Harnsalze auf 180—190° entwickelt sie nach Cazeneuve und Hugounenq[5]) kein Ammoniak.

5. Dieselbe Zersetzung erfährt die Hippursäure auch durch den Micrococcus ureae bei der alkalischen Harngärung; nur wird dabei das Glycocoll leicht weiter verändert (van Tieghem)[6]).

Nach Seo[7]) spalten Staphylokokken und Streptokokken, die sich oft im Harn, der nicht in desinfizierten Gläsern gesammelt ist, finden,

[1]) M. Gonnermann, Pflügers Archiv 59. 44. 1894.

[2]) W. F. Loebisch, Anleitung zur Harnanalyse II. Aufl. Wien u. Leipzig 1881. S. 133.

[3]) Jul. Donath, Journ. f. prakt. Ch. [2] 9. 173. 1874.

[4]) O. Folin and F. F. Flanders, Journ. of biolog. chem. 11. 257. 1912.

[5]) Cazeneuve u. Hugounenq, Bull. de la Soc. chim. [2] 48. 82. 1887.

[6]) van Tieghem, Ann. scient. de l'école normale supérieure I. 4. 209. 1864; Ann. des sc. natur. [5] 2. 168. 1864; Comptes rendus 58. 210. 1864.

[7]) Seo a. a. O. 446.

Digitized by Google

die Hippursäure ebenfalls schnell in grosser Menge, während Bact. coli, Typhus- und Paratyphusbazillen und Bacillus pyocyaneus dazu nicht imstande sind. Ob solche Spaltungen durch Bakterien auch im infizierten Körper vorkommen, muss noch untersucht werden.

Auch aus Organen von Hunden und Schweinen lassen sich nach Schmiedeberg und Minkowski Auszüge gewinnen, Lösungen des „Histozyms", welche die Hippursäure in Glycocoll und Benzoesäure zerlegen. Dagegen geht dem Trypsin (Gulewitsch) und dem Erepsin (Cohnheim)[1]) diese Fähigkeit ab.

6. In alkalischer Lösung wird sie nach Gössmann durch Chlor in kurzer Zeit in Benzoylglycolsäure übergeführt:

$$C_6H_5.CO-NH.CH_2.COOH + H_2O + 3Cl =$$
$$C_6H_5.CO-CH.OH-COOH + 3HCl + N.$$

Die freie Hippursäure wird dagegen selbst in siedender wässeriger Lösung von Chlor nicht verändert (Curtius).

7. Mit Bromlauge entwickelt sie keinen Stickstoff (Knop und Wolf, Hüfner, Esbach). Dagegen gibt sie nach Denigès[2]) beim Kochen mit dem Reagens einen kermesfarbenen Niederschlag, den Benzoesäure nicht gibt.

Die Abänderung dieser Reaktion und ihre Anwendung zum Nachweis der Hippursäure durch Dehn s. unter D.

8. Löst man Hippursäure in konzentrierter Schwefelsäure und fügt polymeren Formaldehyd im Überschuss hinzu, oder erhitzt man Hippursäure mit Formaldehydlösung mit oder ohne Anwendung von Kondensationsmitteln, so entsteht Methylenhippursäure von der wahrscheinlichen Formel

$$C_6H_5.CO.N\begin{cases} CH_2.CO.O \\ CH_2 \text{———} \end{cases}$$

Sie krystallisiert aus heissem Essigester in grossen Prismen vom Schmelzpunkt 151°, ist in Wasser wenig, in heissem Benzol und Petroläther löslich. (Patent der Chemischen Fabrik auf Aktien [vormals E. Schering[3])].)

9. Hippursäure liefert, wie S. 592 erörtert, mit Natriumacetat, Essigsäureanhydrid und Benzaldehyd erhitzt, nach Erlenmeyer jr.

[1]) O. Schmiedeberg, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 14. 378. 1881. — O. Minkowski, ebenda 17. 445. 1883. — W. Gulewitsch, Ztschr. f. physiol. Ch. 27. 540. 1899. — O. Cohnheim, ebenda 52. 526. 1907.

[2]) Knop u. Wolf, Chem. Zentralbl. 1860. 258. — Hüfner, Journ. f. prakt. Ch. [2] 3. 18. 1871. Esbach, Gazette méd. de Paris 24. 1873. — G. Denigès, Comptes rendus 107. 662.

[3]) Ref. im Chem. Zentralbl. 1904. I. 411.

Digitized by Google

das Lactimid der Benzoylaminozimtsäure. Ähnliche Kondensationen mit Bildung charakteristischer Lactimide erfolgen mit vielen anderen Aldehyden.

10. Lässt man starke Salpetersäure in der Siedehitze auf Hippursäure einwirken, dampft zur Trockne ab, bringt den Rückstand in ein Glasröhrchen und erhitzt, so entwickelt sich ein intensiver, bittermandelähnlicher Geruch von Nitrobenzol. Da selbst noch Spuren von Nitrobenzol ziemlich anhaltend einen starken Geruch verbreiten, so ist diese Reaktion zur Entdeckung selbst sehr kleiner Mengen von Hippursäure anwendbar (Lücke)[1]).

Dasselbe Resultat gibt die Benzoesäure; bei der Zimtsäure verdeckt der spezifische Zimtgeruch jeden anderen. Albumin, Leim, Harnsäure, Harnzucker, Salicin, Salicylursäure, Choloidinsäure, Anissäure, Pyrogallussäure, Chinasäure, Pikrinsäure, Naphthalin, Phtalsäure, Indigo, Isatin geben diese Reaktion nicht.

11. Bei der Behandlung mit salpetriger Säure entwickelt die Hippursäure nur Spuren Stickstoff (Heinrich), auch in der Wärme nicht mehr, wenn die Säure nicht vorher zu Glycocoll und Benzoesäure zersetzt ist (Kreusler)[2]).

12. Bei schwachem Erhitzen im Reagenzglas schmilzt die Hippursäure zu einer öligen Flüssigkeit, die beim Erkalten wieder krystallinisch erstarrt; bei stärkerem Erhitzen färbt sich die geschmolzene Masse rot, zieht sich an der Wand des Glases in die Höhe, gibt ein Sublimat von Benzoesäure und entwickelt zugleich anfangs einen angenehmen Heugeruch, später den nach Blausäure.

C. Darstellung. 1. Im grossen. Man verwendet am zweckmässigsten Harn von Pferden, Kühen, Schafen, die mit Gras oder Wiesenheu gefüttert worden sind. Der Harn muss in reinen Gefässen aufgefangen und in möglichst frischem Zustand verarbeitet oder unmittelbar nach der Entleerung sterilisiert werden. Die Darstellung bietet nur insofern Schwierigkeiten, als es nicht leicht ist, die Hippursäure farblos zu erhalten; auf diesen Punkt sind alle Bestrebungen gerichtet.

a) Man kocht nach Gregory Pferdeharn mit Kalkmilch auf, coliert, dampft schnell auf $^1/_6$ oder $^1/_8$ ein und übersättigt mit Salzsäure, sammelt die nach 24 Stunden auskrystallisierte, noch rötliche Hippursäure, kocht sie nochmals mit Kalkmilch, filtriert und fällt wieder mit Salzsäure. — Nach H. Schwarz dampft man den Harn auf $^1/_6$—$^1/_8$ ein, versetzt ihn mit Salzsäure im Überschuss, löst den Niederschlag in heisser Kalkmilch, fällt in der Wärme mit kohlensaurem Alkali, das Filtrat mit Chlorcalcium, filtriert wieder und schlägt die Hippursäure mit Salzsäure nieder. Man löst die Hippursäure wieder in überschüssiger Kalkmilch in der Wärme, behandelt die Lösung mit Kohlensäure, wobei ein stark gefärbter Niederschlag entsteht, und fällt das Filtrat mit Salzsäure. — Hansen[3]) löst die rohe Säure kochend in Kalkmilch und Wasser und fällt die alkalische Lösung in der Wärme mit konzentrierter Ammoncarbonatlösung und mit Chlorcalcium. Aus dem abgekühlten

[1]) Lücke, Archiv f. pathol. Anat. **19**. 196. 1860.

[2]) F. Heinrich, Sachsses Phytochem. Unters. **1**. 101. — U. Kreusler, Landwirtsch. Versuchsst. **31**. 310. 1885.

[3]) Gregory, Ann. d. Chem. u. Pharm. **63**. 125. 1847. — H. Schwarz, Ann. d. Chem. u. Pharm. **54**. 29. 1845. — G. Hansen, Jahresber. f. Tierchem. 1881. 116.

Digitized by Google

Filtrat wird die Hippursäure mit Salzsäure niedergeschlagen. Diese Reinigung wird, wenn nötig, wiederholt. Auch kann man die rohe Säure vorher mit Permanganat teilweise entfärben. (In den Mutterlaugen bleibt viel Hippursäure zurück.)

b) Bensch[1]) versetzt die heisse Lösung der rohen Hippursäure in Kalkmilch mit so viel Alaunlösung, bis die Flüssigkeit nicht mehr alkalisch reagiert, lässt sie auf 40° erkalten, fällt mit kohlensaurem Natron aus und das Filtrat mit Salzsäure; die abgeschiedene Hippursäure wird dann in wässeriger Lösung noch mit Tierkohle entfärbt. — Schnell und sicher führt folgendes Verfahren zum Ziele. Die rohe Hippursäure wird in heissem Wasser gelöst, mit Alaun und dann so viel kohlensaurem Natron versetzt, dass ein reichlicher Niederschlag entsteht, die Flüssigkeit aber noch sauer reagiert. Das Filtrat wird zur Krystallisation verdunstet und, wenn nötig, noch mit Salzsäure versetzt. Der Farbstoff, welcher den Krystallen noch anhaftet, lässt sich leicht durch blosses Umkrystallisieren oder durch Tierkohle entfernen (Huppert).

c) Löwe löst in der heissen, mit Salzsäure versetzten Lösung etwas Zink auf und fügt der Flüssigkeit zuletzt etwas Kohle zu. Die Krystalle dunkeln am Licht wieder nach (Conrad)[2]). Oder er löst die Hippursäure in kohlensaurem Natron und kocht mit Zinkvitriol und Tierkohle; die entfärbte Flüssigkeit wird mit Salzsäure gefällt.

d) Zinnoxydul reduziert in alkalischer Hippursäurelösung den Farbstoff und fällt ihn zugleich. Salzsäure fällt darauf weisse Hippursäure (Conrad)[2]).

e) Zur Entfärbung der (freien) Hippursäure sind auch Oxydationsmittel vorgeschlagen worden: übermangansaures Kali (Gössmann), Chlorkalk (Liebig), Chlor (Dauber, Cazeneuve), Salzsäure und chlorsaures Kali (Rieckher), kalte Salpetersäure (Hutstein, Conrad). Das Verfahren von Gössmann ist gut, nur geht dabei neben dem Kali auch Manganoxydul in Lösung, das durch Salzsäure entfernt werden kann. Die Behandlung mit Chlor wird von Curtius[3]) empfohlen. Man verfährt dabei so, dass man in die siedende wässerige Lösung der Säure Chlor leitet, bis die Lösung nur noch pomeranzenrot ist, die Lösung abkühlt, die Mutterlauge schnell von den Krystallen trennt und diese ein paar Mal mit kaltem Wasser wäscht. Man löst die Krystalle wieder und entfärbt mit Chlor, bis die Lösung hellgelb ist. Den Rest des Farbstoffs kann man durch Umkrystallisieren mit Tierkohle beseitigen.

f) Von beigemengter Benzoesäure, die sich schon an dem Auftreten einer milchigen Trübung bei der Abscheidung der Säure kenntlich macht, lässt sich die Hippursäure befreien, wenn man sie mit Wasser übergiesst, und die Mischung mit Petroleumäther schüttelt.

2. Im kleinen. Man nimmt soviel Harn in Arbeit, dass man auf ungefähr 0,5 g Hippursäure an Ausbeute rechnen kann, von gewöhnlichem Menschenharn 1 Liter oder die ganze Tagesmenge. Diabetischen Harn lässt man vorher mit Hefe vergären, was nach Cazeneuve keinen Verlust an Hippursäure zur Folge haben soll, stark eiweisshaltigen Harn befreit man vorher durch Hitzekoagulation in essigsaurer Lösung vom Eiweiss.

a) Verfahren von Bunge und Schmiedeberg[4]). Der Harn wird, wenn er sauer ist, mit kohlensaurem Natron alkalisch gemacht,

[1]) Bensch, Ann. d. Chem. u. Pharm. 58. 267. 1846.
[2]) Löwe, Journ. f. prakt. Ch. 65. 372. — W. Conrad, Journ. f. prakt. Ch. [2] 15. 243. 1877.
[3]) Curtius a. a. O.
[4]) G. Bunge u. Schmiedeberg, Archiv f. exper. Pathol. 6. 235. 1876.

Digitized by Google

das Filtrat fast zur Trockne verdunstet und der Rückstand wiederholt mit kaltem Alkohol ausgezogen. Von der Lösung wird der Alkohol vollständig abdestilliert, die rückständige wässerige Flüssigkeit mit Salzsäure angesäuert und wiederholt mit immer neuen Portionen Essigäther (wenigstens 5 mal) ausgeschüttelt. Der abgehobene Essigäther wird durch Schütteln mit Wasser gewaschen und bei mässiger Temperatur verdunstet, wonach die Hippursäure neben Benzoesäure und anderen in Essigäther löslichen Substanzen zurückbleibt; von diesen Verunreinigungen lässt sich die Hippursäure durch Behandeln mit Petroläther befreien, welcher die Hippursäure ungelöst zurücklässt. Die Säure wird dann in wenig warmem Wasser gelöst, die Lösung mit etwas Tierkohle digeriert und bei höchstens 50—60° zur Krystallisation verdunstet.

Der Äther bildet mit den Lösungen, mit denen er geschüttelt wird, oft Emulsionen, in denen eine Trennung der Flüssigkeiten in zwei Schichten schlecht von statten geht; diesem Übelstand lässt sich vorbeugen, wenn man die Flaschen, in welchen man die Flüssigkeiten schütteln will, nahezu ganz anfüllt. — Nach W. v. Schröder[1]) lässt sich eine bessere Trennung der Essigätherlösung von dem Waschwasser erreichen, wenn man dem Wasser etwas Kochsalz zufügt.

Krystallisiert die erhaltene Hippursäure nicht, so verwandelt man sie nach Bunge und Schmiedeberg durch Kochen ihrer wässerigen Lösung mit kohlensaurem Zink in das Zinksalz, dampft die Lösung ein, nimmt das hippursaure Zink mit Alkohol auf, verdunstet den Alkohol und behandelt den Rückstand mit verdünnter Salzsäure und Essigäther. — Schultzen entfernte die die Krystallisation störenden fremden Stoffe in der Weise, dass er den Extraktionsrückstand in Wasser löste, die Lösung mit einem Tropfen Bleiessig fällte, das Filtrat mit Schwefelwasserstoff behandelte, eindampfte und nach dem Erkalten mit etwas Salzsäure versetzte.

Aus einem trockenen Gemenge von Benzoesäure und Hippursäure zieht Chloroform nach Fischer die Benzoesäure sehr schnell aus und lässt die Hippursäure fast quantitativ zurück; versetzt man eine Lösung beider Säuren mit viel Chloroform, so wird die Hippursäure nach und nach beinahe vollständig gefällt, während die Benzoesäure vollständig in Lösung bleibt. — Gonnermann[2]) bewerkstelligt die Trennung der beiden Säuren in der Weise, dass er den Essigätherauszug zum Sirup verdunstet, und den Rückstand in Chloroform löst, dem auf 100 ccm 5 ccm Benzol zugesetzt sind. Die anfänglich klare Lösung trübt sich schnell unter Abscheidung von Hippursäure. Nach 24 Stunden wäscht man den Niederschlag an der Saugpumpe erst mit benzolhaltigem, dann mit reinem Chloroform, bis dieses auf dem Uhrglas keinen tropfenförmigen Rückstand mehr hinterlässt. Die Hippursäure ist vollkommen weiss.

b) Das Verfahren von G. Meissner[3]) bezweckt namentlich eine vollständige Trennung der Hippursäure von der Bernsteinsäure.

Der Harn wird mit Barytwasser ausgefällt, der überschüssige Baryt vorsichtig mit Schwefelsäure entfernt, das noch alkalische Filtrat mit Salzsäure vollends genau neutralisiert, bis zur Sirupkonsistenz eingedampft und die noch heisse Flüssigkeit sofort mit soviel absolutem Alkohol versetzt, bis keine Trübung mehr entsteht.

[1]) W. v. Schröder, Ztschr. f. physiol. Ch. **3**. 325. 1879.

[2]) Ch. S. Fischer, Ztschr. f. physiol. Ch. **19**. 171. 1894. — M. Gonnermann, Pflügers Archiv **59**. 44. 1894.

[3]) G. Meissner und C. U. Shepard, Untersuchungen über die Entstehung der Hippursäure. Göttingen 1866. 11 u. 108.

Digitized by Google

Die alkoholische Lösung, welche alle Hippursäure und keine Bernsteinsäure enthält, wird durch Verdunsten völlig vom Alkohol befreit, der Rückstand noch warm mit einigen Tropfen konzentrierter Salzsäure versetzt und wiederholt mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem Verdunsten des Äthers pflegt die Hippursäure auszukrystallisieren.

c) Cazeneuve[1]) dunstet 250 ccm Harn auf 25 ccm ein, fügt dann 5 ccm Salzsäure (nach Loebisch besser Essigsäure) und 50 g gebrannten Gips zu und trocknet vollends. Der Rückstand wird gepulvert und in einem Extraktionsapparat mit wasser- und alkoholfreiem Äther (besser Essigäther) völlig erschöpft. Vom Auszug wird der Äther abgedunstet und der Rückstand aus wenig Wasser umkrystallisiert.

d) Völker[2]) wendet ein dem Cazeneuveschen Verfahren ähnliches an. Es werden 200—300 ccm Harn in einer Hofmeisterschen Glasschale von 100 ccm Fassungsraum auf ein Drittel eingedampft, dann mit 4 g Natriumphosphat (B. 2) versetzt, und, wenn der Rückstand sirupdick geworden ist, mit überschüssigem gebranntem Gips. Dann wird vollends getrocknet, die Masse samt der Schale gepulvert und das Pulver im Soxhletschen Extraktionsapparat erst 4—6 Stunden mit frisch rektifiziertem Petroläther vom Siedepunkt 60—80°, und darauf 6—10 Stunden mit wasser- und alkoholfreiem Äther ausgezogen. Nach dem Verjagen des Äthers wird der Rückstand in heissem Wasser gelöst, mit Tierkohle entfärbt, die Kohle völlig mit heissem Wasser ausgewaschen und die Lösung bei 50—60° auf 1—2 ccm eingedampft und der Krystallisation überlassen. Die Krystalle werden noch mit einigen Tropfen Wasser und Äther nachgewaschen.

3. Zur Darstellung im grossen wie im kleinen aus Herbivorenharn empfiehlt Roaf[3]) folgende einfache Methode:

Man setzt zu 1 Liter Harn 250 g Ammonsulfat oder das gleiche Volum gesättigte Ammonsulfatlösung und 15 ccm konzentrierte, 98%ige Schwefelsäure. Die Krystallisation beginnt schon nach 10—20 Minuten. Zur vollständigen Abscheidung lässt man 24 Stunden stehen. Will man die Krystallisation beschleunigen, so fügt man mehr Ammonsulfat zu. Die Krystalle sind nur wenig gefärbt und können durch Umkrystallisieren aus heissem Wasser mit Tierkohle farblos erhalten werden. 25 ccm Kuhharn genügen zur Darstellung von krystallisierter Hippursäure.

D. Nachweis. 1. Zum Nachweis im Harn ohne vorhergehende Isolierung benutzt Dehn[4]) das Verhalten gegen Natriumhypobromitlösung (s. B. 7):

Man versetzt einige ccm Harn mit so viel Natriumhypobromitlösung, als nötig ist, um den Harnstoff zu zersetzen und das Gemisch

[1]) P. Cazeneuve, Journ. de Pharm. et de Chimie [4] **29**. 309. 1879; Ztschr. f. analyt. Ch. **19**. 252.
[2]) O. Völker, Chem. Zentralbl. 1887. 125.
[3]) H. E. Roaf, Biochem. Journal **3**. 185. 1908.
[4]) W. M. Dehn, Journ. of the Americ. Chem. Soc. **30**. 1507 zit. n. Jahresber. f. Tierch. **38**. 322.

Digitized by Google

bleibend gelb zu färben. Beim Erhitzen zum Sieden entsteht ein orangefarbiger oder braunroter Niederschlag, bei Spuren nur eine rauchige oder schwach rote Färbung. Nach einiger Zeit scheidet sich ein aus Erdphosphaten und der braunen amorphen Substanz bestehender Niederschlag ab. Die aus reiner Hippursäure gewonnene Substanz enthält C, H, N und Br und entwickelt beim Kochen mit Wasser Isonitrilgeruch. — Harnsäure, Benzoesäure, Oxalsäure, Fettsäure, Kreatin, Aceton. Acetessigsäure, Glycose, Glycogen, Leucin geben keine Färbungen.

2. Sicherer erscheint es für den Nachweis, die Hippursäure als solche zu isolieren, wozu eine der unter C. 2 oder 3 beschriebenen Methoden zu verwenden ist. Die krystallisierte Hippursäure erkennt man leicht an ihrer Krystallform (B. 1), ihrem Verhalten bei der trockenen Destillation (B. 12) und ihrer leichten Löslichkeit in Alkohol und heissem Wasser. Neben diesen Proben lassen sich zur weiteren Bestätigung die Lückesche Reaktion (B. 10) und das Verhalten eines ihrer Salze gegen säurefreies Eisenchlorid (B. 2) sowie die Überführung in ein Lactimid (B. 9) verwenden. Durch die Bestimmung des Schmelzpunktes lässt sie sich leicht und sicher von der Phenacetursäure (s. nächstes Kapitel) unterscheiden.

E. Bestimmungsmethoden.

Mit Rücksicht auf die leicht eintretende Zersetzung der Hippursäure (s. B. 5) empfiehlt es sich den Harn in sterilen Gefässen aufzufangen, event. unter Zusatz von Chloroform zu sammeln, und frisch zu verarbeiten, oder den Harn nach der Entleerung aufzukochen. Zusatz von Phenol oder Thymol als Antisepticum kann bei manchen Bestimmungsmethoden Fehler veranlassen (vgl. die Polemik Brugsch-Lewinski[1]).

I. Darstellung und Wägung der Hippursäure.

1. Verfahren von Bunge und Schmiedeberg.

Bunge und Schmiedeberg bestimmten die Hippursäure nach dem unter C. 2 angegebenen Verfahren. Man verwendet 100—200 ccm Harn. Die gewonnene Hippursäure lässt sich nach dem Trocknen gleich in dem Schälchen wägen, in welchem sie auskrystallisiert ist.

Bei Versuchen mit Lösungen reiner Hippursäure fanden Bunge und Schmiedeberg bei 5 maligem Ausschütteln der Flüssigkeit mit Essigäther 97,4 % wieder. v. Schröder[2]) erhielt stets gut untereinander übereinstimmende Resultate und

[1]) Th. Brugsch, Ztschr. f. exper. Pathol. u. Ther. **5**. 731. 1909. — J. Lewinski, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **61**. 88. 1909.

[2]) W. v. Schröder, Ztschr. f. physiol. Ch. **3**. 323; Ztschr. f. analyt. Ch. **19**. 252. 1879.

Digitized by Google

fand von der einem Hammel beigebrachten Benzoesäure 94,2 und 99,6% als Hippursäure wieder.

Die Methode gibt bei irgend erheblichen Hippursäuremengen sehr gute Resultate, lässt aber bei kleinen Mengen z. B. im normalen Kaninchenharn im Stich (Jaarsveld und Stockvis, Blumenthal, Wiechowski, Riecke)[1].

Lewinski[2]) betont folgende Kautelen: 1. Man überzeuge sich, dass die Extraktion mit Essigäther erschöpfend ist. 2. Der Essigäther-Auszug muss in grossen Glasschalen verdunstet werden, damit nichts über den Rand steigt. 3. Zum Umkrystallisieren des Essigäther-Rückstandes müssen möglichst kleine Flüssigkeitsmengen verwandt werden. 4. Die gereinigte Substanz soll auf dem Boden eines engen Becherglases auskrystallisieren. 5. In der abgehobenen, auf 3—4 ccm eingeengten Mutterlauge ist die Ausscheidung von Restkrystallen abzuwarten.

2. Modifikation von Rem-Picci[3]).

200—400 ccm Harn werden mit einer Lösung von 5 g Chlorbaryum in 100 ccm gesättigter Barytlösung versetzt, so lange noch ein Niederschlag ausfällt. Dieser wird mit warmem Wasser ausgewaschen. Enthält das Filtrat Eiweiss, so behandelt man es mit Alkohol, den man später auf dem Wasserbad entfernt. Man säuert mit Salzsäure an und extrahiert 7 mal mit Essigäther (zuerst mit 150 ccm, dann mit weniger), wäscht die vereinigten Auszüge mit Wasser, destilliert den Essigäther ab und verfährt weiter wie bei 1.

Nach Astolfoni[4]) soll das Verfahren von Rem-Picci bessere Werte geben als das von Bunge-Schmiedeberg.

Nach Wiechowski lassen sich die Verfahren von Bunge-Schmiedeberg und Rem-Picci kombinieren, indem man den Harn in derselben Weise vorbereitet, wie zur Harnstoffbestimmung nach Mörner-Sjöqvist (s. S. 571).

3. Methode von Dakin[5]).

300—500 ccm Harn — je nach dem Hippursäuregehalt — werden auf dem Wasserbad auf ein Volum von etwa 100 ccm eingeengt, in einen Extraktionsapparat gebracht, stark mit Phosphorsäure angesäuert und einen Tag mit Essigäther extrahiert. Die Essigätherlösung, die wenigstens 200 ccm betragen soll und viele Verunreinigungen enthält, wird im Scheidetrichter viermal mit gesättigter Kochsalzlösung — im

[1]) Jaarsveld u. Stockvis, Arch. f. exper. Path. u. Pharmak. 10. 268. 1879. — F. Blumenthal, Ztschr. f. klin. Med. 40. 339. 1900. — W. Wiechowski, Hofmeisters Beiträge 7. 262 ff. 1905. — Riecke a. a. O.

[2]) J. Lewinski, Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. 58. 399. 1908.

[3]) G. Rem-Picci, Archivio di farmac. speriment. e scienze affini 1. 7. 1902 zit. nach Jahresb. f. Tierch. 32. 316.

[4]) G. Astolfoni, Arch. internat. de pharmacodyn. 14. 39. 1905.

[5]) H. D. Dakin, Journ. of biologic. chem. 7. 106. 1909/10.

Digitized by Google

ganzen 75 ccm — geschüttelt, wodurch eine erhebliche Menge Harnstoff beseitigt wird. Sie wird dann zur Entfernung von Kochsalz mit wenigen ccm Wasser gewaschen, die vereinigten Waschflüssigkeiten mit etwas Essigäther ausgeschüttelt, der nach sorgfältiger Trennung und nochmaligem Waschen mit Wasser mit der Hauptmenge der Essigätherlösung vereinigt wird. Die vereinigten Essigätherlösungen werden in einem Rundkolben im Wasserdampfstrom destilliert, bis 750 ccm Destillat gesammelt sind. Hierdurch werden flüchtige Säuren in ansehnlicher Menge entfernt.

Die heisse wässerige Lösung wird mit wenig Tierkohle gekocht, filtriert und der Rückstand mit kochendem Wasser ausgewaschen. Bei erheblichem Gehalt an Hippursäure lässt man aus der Lösung durch längeres Stehen in der Kälte einen grossen Teil der Säure auskrystallisieren. Das Filtrat von den Krystallen wird im Scheidetrichter vorsichtig mit einem Gemische von 2 Teilen Benzol und 1 Teil alkoholfreiem Äther geschüttelt, wodurch die geringen Beimengungen von Indolessigsäure, Oxyphenylessigsäure und verwandten Substanzen entfernt werden. Die wässerige Hippursäurelösung wird zur Trockne verdampft, der Rückstand in wenig kochendem Wasser aufgenommen, und die filtrierte Lösung in ein gewogenes Glasschälchen übergeführt, in das man auch die vorher erhaltene Hippursäure bringt. Den Inhalt des Schälchens lässt man bei gelinder Temperatur verdunsten und erhält so die Säure relativ rein, wie Schmelzpunkts- und Stickstoffbestimmung zeigen. Die Menge nicht krystallisierbarer Substanz, die in verschiedenen Versuchen annähernd konstant ist, beträgt höchstens etwa 20 mg. Der Rückstand im Schälchen wird bei 100^0 getrocknet und die Reinheit durch eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl kontrolliert.

Ringer[1]) fand nach Dakins Methode von zugesetzter Hippursäure 97,87% wieder.

Prüfung auf freie Benzoesäure nach Dakin s. S. 816.

4. Völker verwendete das unter C. 2 d) beschriebene Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Hippursäure. Die auf einem trockenen gewogenen (Glaswoll-) Filter gesammelten Krystalle werden mit einigen Tropfen Wasser und Äther gewaschen und für je 1 ccm Filtrat der gewogenen Hippursäure 1,5 mg hinzugerechnet. Die Resultate sollen sehr befriedigend sein.

5. Cazeneuve empfiehlt die von ihm beschriebene Methode der Hippursäuregewinnung aus Harn (s. C. 2. c.) auch zur quantitativen Bestimmung, aber ohne den Nachweis ihrer Verwendbarkeit.

---

[1]) A. J. Ringer, Journ. of biol. chem. **10**. 329. 1911.

Digitized by Google

II. Bestimmung des Hippursäure-Stickstoffs.

Blumenthal[1]) schüttelt das mit Salzsäure angesäuerte alkoholische Extrakt des Harns mit einem Gemisch von Äther und Alkohol (10 : 1) viermal, wäscht mit Wasser, destilliert den Äther ab und bestimmt im Rückstand den Stickstoff nach Kjeldahl, woraus der Hippursäure-Gehalt errechnet wird.

Das Verfahren ist von Soetbeer einer scharfen Kritik unterzogen worden, die Blumenthal und Braunstein[2]) zurückzuweisen versuchten, doch fanden auch sie, dass nach Blumenthal um 15% niedrigere Werte erhalten werden als nach Bunge-Schmiedeberg.

Abderhalden und Hirsch[3]) schütteln 50 ccm Harn (von Kaninchen) nach Ansäuern mit Salzsäure mit je 50 ccm Essigäther aus. Die Essigätherauszüge werden zur Entfernung aufgenommenen Harnstoffs mit Wasser ausgeschüttelt und dann im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wird in Wasser gelöst, die Lösung im Messkolben auf 50 ccm aufgefüllt und in zwei Proben von je 10 ccm dieser Lösung der Hippursäuregehalt durch Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl festgestellt.

III. Bestimmung der Hippursäure durch Formoltitration (nach Henriques-Sörensen) s. S. 646.

IV. Methoden, nach welchen die freie und gebundene Benzoesäure bestimmt wird.

Die im folgenden zu beschreibenden Verfahren begehen sämtlich den Fehler, dass die abgespaltene Benzoesäure nicht notwendig aus Hippursäure stammen muss, sondern auch durch Spaltung der von Magnus-Levy zuerst dargestellten Benzoeglycuronsäure (s. Kap. „Körperfremde Stoffe"), die nur unvollständig in das alkoholische Harn-Extrakt hineingeht (Brugsch), entstanden sein kann. Zwar ist diese Verbindung im Harn bisher nur nach Fütterung reichlicher Mengen von Benzoesäure gefunden worden, und der Fehler dürfte bei Bestimmungen in normalem Harn kaum ins Gewicht fallen. Indessen ist vorerst nicht mit Sicherheit auszuschliessen, dass die Benzoeglycuronsäure nicht auch in diesem in kleinen Mengen vorkommt. Bei Versuchen über den quantitativen Verlauf des Übergangs von Benzoesäure in Hippursäure ist die Paarung mit Glycuronsäure nach Erfahrungen von Lewinski[4]) auch beim Menschen zu berücksichtigen.

1. Methode von Jaarsveld und Stockvis[5]).

a) Das Essigätherextrakt wird gewonnen wie nach Bunge-Schmiedeberg und mit Petroläther vollständig erschöpft, dann in 10—20 ccm starker Natronlauge gelöst und damit $\frac{1}{4}$—$\frac{1}{2}$ Stunde gekocht. Nach Abkühlung wird die Flüssigkeit mit so viel Salzsäure versetzt, dass sie eine deutlich saure Reaktion zeigt, und

[1]) F. Blumenthal, Ztschr. f. klin. Med. 40. 339. 1900.
[2]) F. Soetbeer, Ztschr. f. physiol. Ch. 35. 536. 1902. — F. Blumenthal u. A. Braunstein, Hofmeisters Beiträge 3. 385. 1903.
[3]) E. Abderhalden u. P. Hirsch, Zeitschr. f. physiol. Chem. 78. 299. 1912.
[4]) A. Magnus-Levy, Biochem. Ztschr. 6. 502. 1907. — Th. Brugsch, Ztschr. f. exper. Pathol. u. Therapie. 5. 734. 1909. — Lewinski, a. a. O. S. 404.
[5]) G. J. Jaarsveld u. B. J. Stockvis, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmak. 10. 271. 1879.

Digitized by Google

mit Petroläther ausgeschüttelt. Der nach einiger Zeit in ein grosses Becherglas abgegossene Petroläther wird der freiwilligen Verdunstung überlassen. Der Rückstand besteht aus reinen Krystallen von Benzoesäure, die trocken gewogen und auf Hippursäure umgerechnet werden. — 100 g Benzoesäure entsprechen 146,7 g Hippursäure.

b) 100 oder 200 ccm Harn werden, falls sie nicht alkalisch sind, mit Soda leicht alkalisch gemacht und zur Sirupdicke eingedampft. Der abgekühlte Sirup wird mit Salzsäure versetzt, 24 Stunden sich selbst überlassen, dann wiederholt mit Essigäther ausgeschüttelt. Der meist mehr oder weniger gefärbte Essigäther wird vorsichtig abgegossen. Wenn die Schichten sich schwer trennen, so führt Zusatz von viel Essigäther oder einigen Tropfen absoluten Alkohols zum Ziele (van de Velde und Stockvis)[1]). Der Essigäther wird der freiwilligen Verdunstung überlassen, der Rückstand zur Bestimmung der freien Benzoesäure mit Petroläther extrahiert und wie unter a) weiter behandelt.

Die Verluste in Harnen mit Hippursäure-Zusatz betrugen nach van de Velde und Stockvis höchstens 12%.

c) Modifikation von Wiener[2]).

Der mit Soda schwach alkalisch gemachte Harn wird in einem Kölbchen im Luftstrom abgedampft und darin mit Alkohol extrahiert um die Extraktion möglichst vollständig zu gestalten. Der mit Wasser aufgenommene Alkoholextrakt wird mit Schwefelsäure angesäuert und im Extraktionsapparat — im Anschluss an einen Vorschlag von Kronecker[3]) — mit einem Gemisch von Äther und etwas Essigäther extrahiert. Die Extraktionsflüssigkeit wird auf dem Wasserbad abgedampft, der Rückstand in heissem Wasser gelöst und im Apparat mit Petroläther vom Siedepunkt 30—60° zur Gewinnung der freien Benzoesäure extrahiert. Der Petroläther wird im Kölbchen bei Zimmertemperatur im Luftstrom abgedampft, das Kölbchen durch Luftdurchleiten auf Gewichtskonstanz gebracht und die freie Benzoesäure gewogen. Der Rückstand aus dem Extraktionsapparat wird in einem Kölbchen mit 10 ccm 35%iger Natronlauge eine Stunde gekocht, die gekochte Lösung mit Schwefelsäure stark angesäuert und die frei gemachte Benzoesäure im Apparat mit Petroläther extrahiert und wie vorher die freie Benzoesäure bestimmt.

Die Bestimmung dauert 3—4 Tage.

d) Modifikation von R. Cohn[4]).

Das alkoholische Harnextrakt wird mit möglichst wenig Wasser in einen Schütteltrichter gespült, abgekühlt, mit konzentrierter Salzsäure stark angesäuert und viermal mit grossen Portionen Äther ausgeschüttelt. In den Äther geht die gesamte freie Benzoesäure und ein Teil der Hippursäure, während meist ein Teil der ausgeschiedenen Hippursäure, im Äther suspendiert, mit ihm zusammen von der salzsauren, wässerigen Lösung abgetrennt wird. Die ätherische Lösung wird nach dem Absetzen der mitgerissenen Hippursäure abfiltriert, der letzte Rest mit frischem Äther nachgespült und vollständig abdestilliert; der trockene Rückstand wird viermal mit grossen Mengen Petroläther (Siedepunkt 30—60°) zur Gewinnung der freien Benzoesäure ausgekocht. — Hierauf werden sämtliche Hippursäure enthaltenden Portionen vereinigt und der Äther aus der salzsauren Lösung durch Erwärmen verjagt. Die von Äther befreite Lösung wird mit mindestens der dreifachen Menge konzentrierter Salzsäure versetzt und 5 Stunden am Rückflusskühler auf dem Sandbade gekocht, was zur Spaltung der gesamten Hippursäure genügt. Nach dem Abkühlen wird die Lösung viermal mit Äther ausgeschüttelt, und der Ätherrückstand wird mit Petroläther extrahiert, aus dem die frei gemachte Benzoesäure wie oben gewonnen wird.

Nach Cohn soll die Methode sich im Kontrollversuch bewährt haben und abgesehen von der Gewinnung der alkoholischen Harnextrakte in etwa 24 Stunden ausführbar sein.

[1]) A. van de Velde u. B. J. Stockvis, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmak. **17.** 193. 1883.

[2]) H. Wiener, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. **40.** 315. 1898.

[3]) H. Kronecker, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmak. **16.** 344. 1882.

[4]) R. Cohn, Festschrift für M. Jaffe, Braunschweig 1901. S. 327.

Digitized by Google

2. Methoden, bei welchen die aus Hippursäure abgespaltene Benzoesäure mit Wasserdampf abdestilliert wird.

a) Methode von Pfeiffer, Bloch und Riecke[1]).

A. Prinzip. Die Hippursäure wird im Harn ohne vorherige Isolierung durch Erhitzen mit Schwefelsäure gespalten und die frei gemachte Benzoesäure mit Wasserdämpfen übergetrieben. Das Destillat wird neutralisiert, auf 50 ccm eingeengt, mit 10 ccm titrierter Schwefelsäure angesäuert und zur Krystallisation 48 Stunden im Eisschrank stehen gelassen. Nach Ablesen der Temperatur im Eisschrank wird von der abgeschiedenen Benzoesäure abfiltriert und ein aliquoter Teil des Filtrats mit Natronlauge titriert. Aus der verbrauchten Lauge lässt sich unter Berücksichtigung der verwandten Volumina berechnen, wieviel Schwefelsäure zur Abscheidung der abfiltrierten Benzoesäure verbraucht wurde, woraus die Menge der abgeschiedenen Benzoesäure bzw. die dieser entsprechende Menge Hippursäure berechnet werden kann. Für die in Lösung gebliebene Benzoesäure ist je nach der Temperatur des Eisschranks ein Korrektionsposten hinzu zu addieren.

B. Ausführung. Der ca. 700 ccm fassende Destillationskolben wird durch einen Kugelaufsatz mit dem Kühler verbunden, der am unteren Ende zur Vermeidung eines etwaigen Verspritzens der oft stossweise überdestillierten festen Benzoesäure mit einem gebogenen Glasstutzen versehen ist; letzterer ragt während der Destillation in einen graduierten, 500 ccm fassenden Zylinder. In den Destillationskolben ragt eine Hahnpipette, die bei 30 ccm eine Marke trägt. Die Destillation erfolgt aus einem Roseschen Metallbade. Von dem zu untersuchenden Harne wird ein aliquoter Teil, der womöglich nicht wesentlich mehr als 1 g Hippursäure enthält, abgemessen und nach Zusatz von 45 ccm konzentrierter Schwefelsäure und einiger Siedesteinchen der Destillation unterworfen. Von diesem Flüssigkeitsgemisch wird zunächst ohne Ersatz des verdampften Wassers stets soviel abdestilliert, dass im Kolben 95 ccm zurückbleiben, also bei Anwendung von 100 ccm Harn 50 ccm, bei 200 ccm Harn 150 ccm usw. Nunmehr hat das Säuregemisch die zur leichten Verflüchtigung der Benzoesäure erforderliche Konzentration erreicht. Alsdann werden Zug um Zug je 30 ccm Wasser durch die Hahnpipette zugelassen und gleiche Mengen Flüssigkeit abdestilliert, welche Operation zehnmal wiederholt wird. Man erhält also bei Anwendung von 100 ccm Harn im ganzen 350 ccm Destillat, bei 150 ccm Harn 400 ccm Destillat usw.

[1]) Th. Pfeiffer, C. Bloch u. R. Riecke, Mitteil. d. landwirtsch. Instituts d. Univ. Breslau. 2. 273. 1902.

Digitized by Google

Der Destillationskolben wird hierauf gegen einen anderen, mit Alkohol beschickten ausgetauscht, und es erfolgt Reinigung des Destillationsrohrs durch Überdestillieren von 60—70 ccm Alkohol. Nach halbstündigem Durchleiten eines Wasserstoffstroms wird das Destillat unter Verwendung von Phenolphthalein als Indikator mit Natronlauge neutralisiert, soweit wie nötig eingedampft und in ein bis zur Marke 50 ccm gekröpftes, im ganzen etwa 80 ccm fassendes Messkölbchen übergespült. Die alsdann schwach rot gefärbte Flüssigkeit wird mit einigen Tropfen einer sehr verdünnten Salzsäure neutralisiert und zur Austreibung der Kohlensäure im Wasserbade erwärmt; tritt hierbei durch Zerlegung des Mononatriumcarbonats in der Wärme wieder Rotfärbung ein, so muss erneut etwas Salzsäure zugesetzt werden, bis bleibende Entfärbung stattfindet. Dieser Punkt ist leicht und sicher erkennbar. Nach dem Erkalten der Flüssigkeit wird bis zur Marke aufgefüllt, und es erfolgt aus einer in einem Stativ befestigten, mit zwei Marken und einem Zuflussrohr versehenen Pipette (Zeit des Nachlaufes gleichmässig berücksichtigen!) der Zusatz von 10 resp. bei dem Vorhandensein grösserer Mengen Hippursäure 20 ccm einer titrierten Schwefelsäure, von der 10 ccm 1,5—2,0 g Hippursäure entsprechen. Das Kölbchen bleibt 48 Stunden im Eisschranke stehen, dann wird sein Inhalt im Eisschranke nach Ablesen der dort herrschenden Temperatur durch ein trockenes Filter filtriert. Vom Filtrate wird, nachdem es Zimmertemperatur angenommen hat, ein aliquoter Teil abgemessen und titriert.

Die Berechnung gestaltet sich, wie folgendes Beispiel zeigt: Angewandte Harnmenge = 100 ccm. Eingedampftes Destillat = 50 ccm, versetzt mit 10 ccm titrierter Schwefelsäure. 10 ccm titrierte Schwefelsäure mögen 47,04 ccm Titrierlauge, 1 ccm Titrierlauge 0,0410 g Hippursäure entsprechen. Diese jeweiligen Wirkungswerte sind besonders sorgfältig zu ermitteln. Temperatur im Eisschrank: 8,5°. Vom Filtrate 40 ccm abgemessen und titriert; verbraucht bei zwei Bestimmungen 18,05, 18,13, im Mittel 18,09 ccm Titrierlauge. Da nur $^2/_3$ der Gesamtflüssigkeit ($^{40}/_{60}$) titriert wurden, so berechnet sich für die Gesamtflüssigkeit ein Verbrauch von $\frac{18{,}09 \cdot 3}{2} = 27{,}13$ ccm Lauge zur Rücktitration. Vorgelegt waren 10 ccm Säure, entsprechend 47,04 ccm Titrierlauge. Die Differenz 47,04—27,13 = 19,91 ccm Titrierlauge entspricht also der abgeschiedenen Menge Benzoesäure und ist durch Multiplikation mit dem Faktor 0,0410 umzurechnen auf 0,8163 g Hippursäure. Nach der weiter unten folgenden Tabelle I bleibt in 60 ccm Flüssigkeit bei 8,5° eine 0,1806 g Hippursäure entsprechende Menge Benzoesäure gelöst, so dass sich im ganzen ein Gehalt von 0,8163 + 0,1806 = 0,9969 g Hippursäure

Digitized by Google

in 100 ccm Harn ergibt. Sollte wesentlich mehr als 1 g Hippursäure gefunden werden, so ist von der in Tabelle II angegebenen Korrektur Gebrauch zu machen.

Die Methode von Pfeiffer, Bloch und Riecke gibt bei Pflanzenfresserharn mit hohem Hippursäuregehalt, z. B. beim Hammel, sehr gute Werte. Ihre Schwäche liegt darin, dass selbst bei einem Harn, der 1% Hippursäure enthält, der aus dem Lösungskoeffizienten berechnete Wert etwa 18—20% des Gesamtwertes ausmacht. Diese Werte sind aber für reines Wasser berechnet, während das Harndestillat noch andere Bestandteile, die auf die Löslichkeit der Benzoesäure von Einfluss sein können, enthält. Auch ist zu bedenken, dass bei Harnen, die reich an Phenacetursäure sind (s. nächstes Kapitel), Phenylessigsäure sich mit der Benzoesäure zusammen ausscheiden kann.

Tabelle I.

Lösungskoeffizienten der Benzoesäure, berechnet auf Hippursäure.

Temperatur	In 1000 Teilen Wasser sind gelöst		Jn 60 ccm Flüssigkeit = Hippursäure
	Benzoesäure	umgerechnet auf Hippursäure	
°C	Teile	Teile	g
4,5	1,823	2,674	0,1604
5,0	1,850	2,714	0,1628
5,5	1,878	2,755	0,1653
6,0	1,906	2,796	0,1677
6,5	1,934	2,837	0,1702
7,0	1,963	2,880	0,1728
7,5	1,993	2,924	0,1754
8,0	2,022	2,966	0,1779
8,5	2,052	3,010	0,1806
9,0	2,083	3,056	0,1834
9,5	2,114	3,101	0,1861
10,0	2,146	3,148	0,1889
10,5	2,178	3,195	0,1917
11,0	2,211	3,244	0,1946
11,5	2,244	3,292	0,1975
12,0	2,278	3,342	0,2005
12,5	2,312	3,392	0,2035
13,0	2,346	3,442	0,2065
13,5	2,381	3,493	0,2096
14,0	2,417	3,546	0,2128
14,5	2,453	3,599	0,2159
15,0	2,490	3,653	0,2192
15,5	2,527	3,707	0,2224
16,0	2,565	3,763	0,2258
16,5	2,604	3,820	0,2292
17,0	2,644	3,879	0,2327
17,5	2,684	3,937	0,2362

Digitized by Google

Tabelle II.

Korrektur für wechselnden Hippursäuregehalt.

Wenn die Gesamtmenge der zu bestimmenden Hippursäure annähernd beträgt g	so sind bei der Destillation von 360 ccm annähernd zu erwarten %
1,00	100,00
1,25	99,17
1,50	98,34
1,75	98,00
2,00	97,66
2,25	97,32

Bei menschlichen Urinen soll die Methode nach Schmid[1]) ein Defizit von etwa 10% geben.

b) Methode von Wiechowski[2]).

A. Prinzip. Vom alkoholischen Harnextrakt wird ein aliquoter Teil mit Natronlauge gespalten. Die alkalische Lösung wird mit Phosphorsäure angesäuert und im Dampfstrom destilliert. Das in Sodalösung aufgefangene Destillat wird nach dem Eindampfen bis fast zur Trockne mit Salzsäure angesäuert und die Benzoesäure mit Petroläther ausgeschüttelt. Man erhält so den Gesamtwert für freie und abgespaltene Benzoesäure.

Zur getrennten Bestimmung der freien und (in Form von Hippursäure bzw. Benzoeglycuronsäure) gebundenen Benzoesäure verfährt Wiechowski folgendermassen:

Ein aliquoter Teil des alkoholischen Harnextraktes wird in wenig Wasser aufgenommen, mit Salzsäure angesäuert und mit Petroläther ausgeschüttelt. Die Petrolätherauszüge werden mit Barytwasser geschüttelt, und die barytalkalische Lösung zur Entfernung von Fettsäuren oder anderen Verunreinigungen, die mit Baryt ausfallen, vom entstandenen Niederschlag filtriert, und ebenso auf Benzoesäure verarbeitet wie oben die natronalkalische Lösung.

Die von der präformierten Benzoesäure durch Petroläther befreite Lösung wird mit Essigäther erschöpfend ausgeschüttelt, der Essigäther bei 30° verdunstet, der Rückstand mit Natronlauge gespalten

[1]) J. Schmid, Zentralbl. f. inn. Med. 25. 81. 1905.
[2]) W. Wiechowski, Hofmeisters Beiträge 7. 265. 1905.

Digitized by Google

und die frei gemachte Benzoesäure wie oben die Gesamt-Benzoesäure bestimmt.

B. Ausführung. Der (stets sauer reagierende) Harn wird mit Natriumcarbonat eben deutlich alkalisch gemacht, auf dem Wasserbade zum Sirup eingedampft, mit Alkohol (die letzten Spuren mit Wasser) in einen Messkolben von geeigneter Grösse gespült, Alkohol bis fast zur Marke nachgegossen und 24 Stunden stehen gelassen, hierauf bis zur Marke aufgefüllt, durchgeschüttelt, rasch filtriert und vom Filtrate ein aliquoter Teil, der der Wahrscheinlichkeit nach nicht mehr als 0,3—0,4 Gesamtbenzoesäure enthält, mit Pipetten in Stöpselflaschen von entsprechendem Inhalt (bzw. Hartglaskolben) abgefüllt. Der Alkohol dieser Extraktteile wird auf dem Wasserbade unter Zuhilfenahme eines Luftstromes, der über den Flüssigkeitsspiegel gesaugt oder geblasen wird, entfernt und der Rückstand in möglichst wenig Wasser (meist 5 ccm) gelöst.

Das weitere Vorgehen ist verschieden, je nachdem die Gesamtbenzoesäure des Harnes oder Benzoesäure und Hippursäure gesondert bestimmt werden sollen.

Im ersteren Falle wird die wässerige Lösung unter Zusatz von starker Lauge mehrere Stunden unter Rückfluss gekocht (I), im letzteren Falle wird mit Salzsäure angesäuert und zunächst die freie Benzoesäure 5 mal mit je 20 ccm Petroläther (Siedetemperatur 30—60°) ausgeschüttelt. Die einzelnen Petrolätherportionen werden mittels eines am unteren Ende aufgebogenen Heberchens, welches nebst einem Mundstück (nach Art einer Spritzflasche) in einen passenden Korkstopfen montiert ist, durch ein trockenes Filter in einen Schütteltrichter abgelassen. (Extraktionsflasche, Filter und Schütteltrichter sind hierbei übereinander an einem Universalgestell befestigt. Durch Anblasen des Mundstückes der Extraktionsflasche bringt man leicht die Flüssigkeit durch den Heber zum Ausfliessen und schiebt diesen dann vorsichtig abwärts, bis sein aufgebogenes abgeschmolzenes Ende eben mit der Trennungsfläche zwischen Petroläther und wässeriger Schicht abschneidet. Die geringen Mengen Extrakt, die jedesmal in der Spitze des Hebers zurückbleiben, lassen sich leicht durch Ansaugen oder Ausblasen in die Flasche oder auf das Filter bringen. Nach jeder Extraktion werden alle Teile mit Petroläther abgespült.) Dann wird das Petrolätherextrakt 5 mal mit Barythydratlösung ausgeschüttelt, wobei meist eine flockige Fällung erfolgt, die Barytportionen in einen Hartglaskolben filtriert, Filter und Schütteltrichter nachgewaschen (II). Das bei dieser Manipulation ausfallende Baryumcarbonat stört in keiner Weise.

Digitized by Google

Die nach der Benzoesäureausschüttelung in der Extraktionsflasche zurückgebliebene, von ausgeschiedener Hippursäure mehr oder minder trübe Flüssigkeit wird hierauf 5 mal mit Essigäther ausgeschüttelt und die Extrakte mittels des Hebers durch dasselbe Filter, welches zur Filtration des benzoesäurehaltigen Petroläthers gedient hat, in derselben Weise in eine Porzellanschale abgelassen. Hierbei gilt als Regel, das erste Mal solange und mit soviel Essigäther zu schütteln, dass die ganze ausgeschiedene Hippursäure gelöst und die wässerige Schicht klar wird. Leichte Trübungen der Ätherschicht (infolge partieller Emulsionierung) lassen sich stets durch wenige Tropfen Alkohol beseitigen. Die vereinigten Extrakte werden an einem warmen Orte (30°) der Selbstverdunstung überlassen, die Rückstände mit starker Lauge in einen Hartglaskolben gespült und wie I verseift (III). — Dieser Teil der Bestimmung geht rasch vonstatten, die drei Ausschüttelungen beanspruchen kaum mehr Zeit als 1 Stunde. Das Abdunsten des Essigäthers dauert dagegen meist 12 Stunden. Es resultieren schliesslich drei Benzoesäurelösungen: I. Gesamtbenzoesäure; II. freie Benzoesäure; III. gebundene Benzoesäure. Sie werden mit Phosphorsäure angesäuert und der Dampfstromdestillation unterworfen, indem 2 Liter Wasser unter normalem Drucke durchdestilliert werden. Das Destillat tropft durch ein Filterchen in eine entsprechende Menge Natriumcarbonatlösung. Nachdem die alkalisch reagierenden Destillate in Schalen bis fast zur Trockne eingedampft sind, wird abermals in Extraktionsflaschen gespült und in derselben Weise wie früher dreimal mit Petroläther ausgezogen. Die Extrakte werden in gewogene Kölbchen filtriert, der Petroläther durch einen (mit Schwefelsäure) getrockneten Luftstrom bei Zimmertemperatur entfernt und die zurückbleibende, tadellos weisse Benzoesäure gewogen. Bei der Leichtflüchtigkeit der Benzoesäure ist es nur erwünscht, dass während des Blasens die Temperatur des Petroläthers bis unter 0° sinkt, so dass sich die Wände der Kolben mit einer Eiskruste bedecken. Die zurückbleibende Benzoesäure pflegt, sobald der Geruch nach Petroläther verschwunden ist, gewichtskonstant zu sein; andernfalls wird noch 10—15 Minuten trockene Luft durchgeleitet, oder die Kolben werden im Exsiccator getrocknet. Die erhaltenen Benzoesäurewerte werden unter Vernachlässigung des Volums der alkoholunlöslichen Harnbestandteile auf die Gesamtharnmenge umgerechnet.

Die Fehler der Methode liegen nach den Kontrollanalysen in den Milligrammen. Mit Berücksichtigung der Vergrösserung der Fehler durch das Umrechnen auf die Gesamt-Harnmenge nimmt Wiechowski als Fehlergrenze die Zahl von ± 0,02 g Benzoesäure an.

Digitized by Google

c) Methode von Seo[1]).

Zur Bestimmung der präformierten Benzoesäure wird der mit Soda alkalisch gemachte Urin bis zur Sirupkonsistenz abgedampft und mit Alkohol extrahiert. Der Rückstand des Extrakts wird in möglichst wenig Wasser aufgenommen, mit Phosphorsäure angesäuert und mit Petroläther erschöpfend ausgeschüttelt.

Zur Bestimmung der Gesamt-Benzoesäure wird die zu untersuchende Harnportion mit 45 ccm konzentrierter Schwefelsäure in einen Kolben gebracht und wie bei Verfahren 2. a) abdestilliert, bis nur noch 95 ccm Flüssigkeit im Kolben übrig sind, dann werden durch ein in den Kolben eingeführtes, bis zum Boden reichendes, mit einem Glashahn verschliessbares Trichterrohr 30 ccm Wasser allmählich nachgefüllt und weiter abdestilliert, bis wieder 95 ccm übrig sind. Zufügung und Destillation von je 30 ccm Wasser wird im ganzen 10 mal wiederholt. Das gesamte Destillat wird mit Natriumcarbonat schwach alkalisch gemacht und auf dem Wasserbad bis auf wenige ccm eingeengt, in ein Kölbchen gebracht, mit Phosphorsäure angesäuert, wobei oft schon Benzoesäure ausfällt, und erschöpfend mit Petroläther ausgeschüttelt.

Bei der Ausschüttelung wird die erste Petrolätherportion zunächst in ein Kölbchen abgegossen, mit etwas Wasser gewaschen, dann erst in eine Glasschale abgegossen; jede folgende Petrolätherportion wird unter Verwendung desselben Waschwassers in demselben Kölbchen gewaschen, um einen Verlust an Benzoesäure beim Auswaschen zu vermeiden.

Die Petrolätherrückstände werden nach dem spontanen Abdunsten gewogen.

In drei Kontrollanalysen gab das Verfahren recht befriedigende Resultate.

3. Bestimmung der Gesamt-Benzoesäure nach Folin und Flanders[2]).

A. Prinzip. Die Hippursäure wird durch Erhitzen des Harns mit Salpetersäure unter Zusatz von Kupfernitrat gespalten, die gebildete Benzoesäure mit Chloroform extrahiert und in der gewaschenen Chloroformlösung mit Natriumalkoholatlösung titriert. Dass die Spaltung von Hippursäure unter den unten beschriebenen Bedingungen quantitativ erfolgt, ist durch Kontrollversuche festgestellt.

[1]) Y. Seo, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. 58. 442. 1908.
[2]) O. Folin und F. F. Flanders, Journ. of biol. chem. 11. 257. 1912.

Digitized by Google

B. Ausführung. 100 ccm Harn werden in eine Porzellanschale abpipettiert und unter Zusatz von 10 ccm 5%iger Natronlauge auf dem Dampfbad zur Trockne verdampft. Der Rückstand wird mit 25 ccm Wasser und 25 ccm konzentrierter Salpetersäure in einen 500 ccm fassenden Kjeldahl-Kolben gebracht und nach Zusatz von 0,2 g Kupfernitrat und einiger Glasperlen $4^1/_2$ Stunden über einem Mikrobrenner in gelindem Sieden erhalten. Der Kolbenhals wird mit einem Hopkinsschen Kühler verschlossen, d. i. ein lose aufsitzendes weites Reagenzglas, in welchem Wasser zirkuliert; das Glas ist mit einem doppelt durchbohrten Stopfen verschlossen, durch dessen eine Bohrung ein bis auf den Boden reichendes Zuflussrohr, durch dessen andere ein unter dem Stopfen abschliessendes Abflussrohr geführt wird. Bei genügendem Wasserdurchfluss geht weder Benzoesäure während des Kochens verloren, noch ändert sich die Konzentration der Salpetersäure im Kolben.

Wenn die Kolben kühl geworden sind, spült man die Kühler mit 25 ccm Wasser ab, bringt den Kolbeninhalt in einen 500 ccm fassenden Scheidetrichter und spült mit 25 ccm Wasser nach, so dass das Gesamtvolum 100 ccm beträgt. Zu der Flüssigkeit fügt man festes Ammonsulfat bis zur Sättigung (etwa 55 g) und schüttelt viermal mit gut gewaschenem Chloroform aus, erst mit 50, dann mit 35, zuletzt zweimal mit je 25 ccm. Mit den beiden ersten Chloroformportionen spült man zuerst den Kjeldahl-Kolben nochmals aus. Der Scheidetrichter darf kräftig geschüttelt werden, da Emulsionsbildung nicht einzutreten pflegt.

Die Chloroform-Ausschüttelungen werden in einem zweiten Scheidetrichter gesammelt und mit 100 ccm gesättigter Kochsalzlösung, die auf den Liter 0,5 ccm konzentrierte Salzsäure enthält, geschüttelt. Die Chloroformlösung wird dann in einen trocknen, 500 ccm fassenden Erlenmeyer-Kolben gebracht und mit $n/_{10}$-Natriumalkoholatlösung unter Anwendung von 4—5 Tropfen Phenolphthalein als Indikator titriert. Die erste deutliche, wenn auch beim Stehen schnell verschwindende Rotfärbung bezeichnet die Endreaktion.

Die Natriumäthylatlösung wird durch Auflösung von 2,3 g reinem Natrium in 1 Liter absoluten Alkohols dargestellt. Sie soll eher etwas schwächer als stärker als zehntel-normal sein und wird am besten auf eine Lösung von reiner Benzoesäure in reinem Chloroform eingestellt.

Die Bestimmungen der Hippursäure in normalen Harnen gaben den Autoren gute Übereinstimmung bei Doppelanalysen; Kontrollanalysen mit Hippursäurezusatz sind nicht angeführt.

Digitized by Google

V. Bestimmung der Benzoesäure, Hippursäure und Phenacetursäure nach Steenbock s. S. 840.

Phenacetursäure.

$C_{10}H_{11}NO_3$.

$C_6H_5 . CH_2 . CO . NH . CH_2 . COOH$.

Die Säure wurde synthetisch von Hotter[1]) durch Einwirkung von Phenylessigsäurechlorid auf Glycocoll in alkalischer Lösung bei niedriger Temperatur erhalten.

$$C_6H_5.CH_2.CO.Cl + H_2N.CH_2.COOH + 2NaOH =$$
$$C_6H_5.CH_2.CO.NH.CH_2.COONa + NaCl + H_2O.$$

A. Vorkommen. Sie ist zuerst von E. Salkowski im Harn des Pferdes aufgefunden worden und findet sich da regelmässig in kleiner Menge (0,8 g im Liter gefunden), auch kommt sie zeitweilig im Harn des Menschen vor. Sie stammt von der bei der Fäulnis von Eiweiss im Darm entstehenden Phenylessigsäure (α-Toluylsäure) ab; nach Verabreichung dieser Säure an Hunde und Kaninchen findet sie sich nach E. und H. Salkowski in reichlicher Menge im Harne vor; Knoop[2]) konnte diesen Befund bestätigen. Hotter dagegen vermisste die Phenacetursäure im Harne von Menschen, welche mehrere Tage hintereinander täglich 3 g Phenylessigsäure genommen hatten.

Haralamb fand beim Hammel nach sehr eiweissreicher Kost 5,6 g Phenacetursäure in der täglichen Harnmenge. Vom Phenylalaninkomplex der Eiweisskörper sollen bei Pflanzenfressern 40% als Hippursäure, 60% als Phenacetursäure im Harn erscheinen. Steenbock[3]) dagegen vermisste die Phenacetursäure im Kuhharn ganz.

B. Eigenschaften. 1. Wenn die Phenacetursäure langsam aus wässeriger Lösung krystallisiert, so bildet sie harte, kleine, aus dicken rhombischen Tafeln mit abgerundeten Winkeln bestehende Krystalle, die manchen Harnsäureformen ähnlich sind, oder dicke, anscheinend rechtwinklige Prismen mit zweiflächiger Zuspitzung. Aus heissem Wasser krystallisiert sie in dünnen, dicht aufeinander liegenden Plättchen, aus Alkohol und Essigäther nach Hotter[4]) in würfelähnlichen Krystallen. Sie löst sich in 136 Teilen Wasser von 11—12°, also leichter als Hippursäure, leichter in heissem als in kaltem Wasser, schwer in heissem Benzol, ziemlich schwer in heissem Chloroform,

[1]) E. Hotter, Journ. f. prakt. Ch. [2] 38. 117. 1888.

[2]) E. Salkowski, Berichte d. chem. Gesellsch. 17. 3310. 1884; Ztschr. f. physiol. Ch. 9. 229 u. 501. 1885. — E. u. H. Salkowski, Berichte d. chem. Gesellsch. 12. 653. 1879; Ztschr. f. physiol. Ch. 7. 162. 1882/83. — F. Knoop, Hofmeisters Beiträge 7. 154. 1905.

[3]) Haralamb V., Mitt. d. landw. Inst. d. Univ. Breslau. 1909. 703. — H. Steenbock, Journ. of biol. chem. 11. 201. 1912.

[4]) E. Hotter, a. a. O. 97.

Digitized by Google

leicht in Alkohol und in Essigäther. Sie schmilzt bei 143⁰ und zersetzt sich bei 190—200⁰.

2. Ihre Alkalisalze sind in Wasser leicht löslich. Die Lösung derselben gibt mit den Salzen der Erdalkalien keine Niederschläge, ausser, wenn sie sehr konzentriert ist, mit den Salzen der schweren Metalle auch bei grösserer Verdünnung.

Das Kalksalz $Ca(C_{10}H_{10}NO_3)_2$, $2H_2O$ krystallisiert aus heissem Wasser in feinen Nadeln, welche nach dem Trocknen in Form glänzender, weisser Plättchen erscheinen. Verliert das Krystallwasser erst bei 140—150°, löst sich bei 11° in 31,6 Teilen Wasser. — Das Zinksalz ist wasserfrei, löst sich schwer in kaltem, leicht in heissem Wasser. — Das Kupfersalz, mit 1 H_2O, bildet grünlich blaue Plättchen. — Das Bleisalz, mit 1 H_2O, langgestreckte Prismen, ist auch in heissem Wasser schwer löslich. — Das Silbersalz ist wasserfrei, amorph und in Wasser fast unlöslich.

3. Setzt man zu dem mit Methylalkohol zu einem Brei angerührten Silbersalz Jodmethyl, so beginnt schon in der Kälte die Reaktion, die man durch schwaches Erwärmen vollendet. Man filtriert vom Jodsilber ab und zieht dasselbe mit heissem Alkohol aus. Beim Verdunsten krystallisiert der Phenacetursäure-Methylester in langen, feinen Nadeln, die nach mehrmaligem Umkrystallisieren bei 86,5° schmelzen, in heissem Alkohol und Chloroform sehr leicht, in warmem Äther und Benzol leicht löslich, in Schwefelkohlenstoff unlöslich sind.

Der analog mit Jodäthyl dargestellte Äthylester krystallisiert in langen, breiten Prismen vom Schmelzpunkt 79°, der Propylester krystallisiert aus Wasser in breiten, rechteckigen Blättern vom Schmelzpunkt 31°. Die Löslichkeitsverhältnisse beider gleichen denen des Methylesters (Hotter).

4. Beim Kochen mit konzentrierter Salzsäure zerfällt die Phenacetursäure in Phenylessigsäure und Glycocoll.

Die Phenylessigsäure bildet dünne, in kaltem Wasser schwer, in heissem leichter lösliche Plättchen vom Schmelzpunkt 76,5°.

5. Wird Phenacetursäure über den Schmelzpunkt erhitzt, so färbt sie sich rot, wie die Hippursäure und entwickelt dabei einen aromatischen Geruch.

6. Erhitzt man Phenacetursäure und geschmolzenes Natriumacetat mit Benzaldehyd und Essigsäureanhydrid, so entsteht analog wie bei der Hippursäure (s. S. 592, C. 2) das Lactimid der α-Phenylacetylaminozimtsäure, das aus heissem Alkohol in langgestreckten, gelben Tafeln vom Schmelzpunkt 105⁰ gewonnen wird, in Wasser unlöslich, in kaltem Alkohol und Äther schwer löslich ist

$$C_6H_5.CHO + \underset{\displaystyle COOH}{\underset{|}{CH_2}}.NH.CO.CH_2.C_6H_5 =$$

$$C_6H_5.CH = \underbrace{C.N}_{CO}.CO.CH_2.C_6H_5 + 2\,H_2O$$

(Erlenmeyer und Kunlin)[1].

[1]) E. Erlenmeyer jun. u. J. Kunlin, Liebigs Ann. d. Ch. 307. 163. 1899.

Digitized by Google

C. Darstellung. Aus Pferdeharn gewinnt man die Phenacetursäure nach E. Salkowskis letzter Vorschrift in folgender Weise.

Es wird 1 l Harn auf 200 ccm eingedampft, der Rückstand in 800 ccm Alkohol von 95% gelöst, das Filtrat verdunstet, und die wässerige Lösung des Rückstandes stark mit Salzsäure angesäuert. Nachdem die nach einigem Stehen etwa ausgefallene Hippursäure abfiltriert worden ist, wird die Flüssigkeit wiederholt mit alkoholhaltigem Äther (wohl besser Essigäther) ausgeschüttelt, der ätherischen Lösung die Säure durch Schütteln mit überschüssiger Sodalösung entzogen und diese dann nach dem Ansäuern mit Salzsäure wieder mit Äther ausgeschüttelt; der beim Abdestillieren des Äthers zurückbleibende Sirup wird mit 50—80 ccm Wasser zum Sieden erhitzt, die Lösung nach 24 Stunden abfiltriert, auf 15 ccm eingedampft und der Krystallisation überlassen. Die Krystalle werden durch Abpressen zwischen Tonplatten von anhaftender schmieriger Substanz befreit und aus heissem Wasser unter Zusatz von Tierkohle umkrystallisiert. Von etwa beigemengter Hippursäure lassen sich die Krystalle durch Schlämmen, von beigemengter Benzoesäure durch Äther befreien.

In gleicher Weise kann die Phenacetursäure aus Menschenharn erhalten werden.

D. Nachweis. Erkannt wird die Phenacetursäure an ihrer Krystallform und an ihrem Schmelzpunkt. Beim Überhitzen verhält sie sich wie die Hippursäure. Auch die Überführung in das Lactimid (B. 6) kann zur Identifikation benutzt werden.

E. Bestimmung der Hippursäure und Phenacetursäure nach Steenbock[1]).

1. Prinzip. Die Spaltung der Hippursäure erfolgt durch Kochen mit Natronlauge unter Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd, das die Farbstoffe des Harns oxydiert. Aus der angesäuerten Lösung werden Phenole durch Zusatz von Bromwasser entfernt, ein aliquoter Teil abfiltriert und mit Äther ausgeschüttelt. Die aus dem Äther durch Verdunsten gewonnene Benzoesäure wird durch Sublimation gereinigt und gewogen. Das Gewicht wird durch Titration kontrolliert. Ist der Titrationswert geringer als das Gewicht, so wird dies auf eine Beimengung von Phenylessigsäure (aus Phenacetursäure) bezogen, deren Menge aus dem Gewicht des Sublimats und dem Titrationswert berechnet werden kann.

2. Ausführung. In einem Halbliter-Kolben werden 100 ccm Urin zwei Stunden lang über kleiner Flamme mit 10 g Ätznatron und 25 ccm Wasserstoffsuperoxyd, welch letztere in kleineren Einzelportionen zugesetzt werden, gekocht. Nach dem Abkühlen wird die Lösung in einen 200 ccm-Messkolben gebracht und mit 50%iger Schwefelsäure schwach gegen Lackmus angesäuert. Dann wird Bromwasser zugefügt, bis ein schwacher Bromgeruch bleibt, die Lösung bis auf 200 ccm aufgefüllt und durch ein trocknes Filter filtriert. 50 ccm des klaren Filtrats werden nach Ansäuern (Kongoreaktion) mit Äther fünfmal ausgeschüttelt und die Ätherlösung zur Sublimation der Benzoesäure folgendermassen behandelt.

---

[1]) H. Steenbock, Journ. of biol. chem. 11, 201. 1912.

Digitized by Google

Man lässt die Ätherlösung im Scheidetrichter stehen, bis sich die letzten Spuren von Wasser abgesetzt haben und trennt diese ab. Dann lässt man die Ätherlösung Tropfen für Tropfen in ein in einem Wasserbad von 40° befindliches U-Rohr laufen, durch das ein trockner Luftstrom mit der Pumpe durchgesaugt wird. Ist der Äther verdunstet und die Benzoesäure vollkommen trocken, was bei der Temperatur von 40° schnell erreicht wird, so wird sie durch Sublimation gereinigt: Das U-Rohr wird in ein Luftbad gehängt, der eine Schenkel mit einer Schwefelsäure enthaltenden Waschflasche, der andere mit einem gewogenen Kondensationsrohr durch einen schmalen Kork verbunden. Das Kondensationsrohr besteht aus einem leichten Glasrohr (ca. 20 g) von 25 cm Länge und 9 mm lichter Weite, das zu 3 Kugeln von 3 cm Durchmesser mit 9 mm Abstand aufgeblasen ist. Die Kugeln sind mit Glaswolle gefüllt. Durch den Apparat wird ein trockner Luftstrom gesaugt und das Luftbad allmählich auf 130° erhitzt. Die Benzoesäure sublimiert ungefähr innerhalb einer Stunde in das Kondensationsrohr, das man nach Vollendung der Sublimation im Exsiccator abkühlen lässt und wägt.

Das Sublimat wird mit $n/_{20}$-Natronlauge unter Anwendung von Phenolphthalein als Indikator titriert und so die gefundene Benzoesäure kontrolliert. Ist der Titrationswert geringer als dem Gewicht des Sublimats entspricht, so war der Benzoesäure Phenylessigsäure beigemengt, deren Molekulargewicht um CH_2 grösser ist als das der Benzoesäure. Ihre Menge kann nach folgender Formel berechnet werden:

$$\left[\text{Gewicht des Sublimats} - \left(\text{ccm } \frac{20}{n} \text{ NaOH} \cdot \text{g Benzoesäure in 1 ccm } \frac{n}{20} \text{ Lösung}\right)\right] : x = CH_2 : C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot COOH$$

x = Gewicht der Phenylessigsäure.

Gewicht des Sublimats — x = Gewicht der Benzoesäure.

Beispiel einer Berechnung: Das Gewicht des Sublimats betrug 0,370 g, zur Titration wurden verbraucht 57,75 ccm $n/_{20}$-NaOH. 1 ccm $n/_{20}$-Lauge entspricht 0,006 g Benzoesäure. Daraus berechnet sich nach der obigen Formel

$$[0{,}3700 - (57{,}75 \cdot 0{,}006)] : x = 14 : 136$$
$$0{,}0177 : x = 14 : 136$$
$$x = 0{,}1719$$

Gefunden 0,1719 g Phenylessigsäure und 0,37 — 0,1719 = 0,1981 g Benzoesäure.

Die von Steenbock ausgeführten Kontrollanalysen mit Zusatz von Hippursäure und Phenacetursäure gaben gute Resultate. Aber Steenbock weist selbst auf eine Schwäche der Methode hin, die sich geltend macht, sobald ein Gemenge von Benzoesäure und Phenyl-

Digitized by Google

essigsäure vorliegt: Eine Abweichung von 0,1 ccm $n/_{20}$-NaOH bedingt nach der obigen Berechnung nämlich eine Differenz von 0,0068 g Phenylessigsäure bzw. 0,0068 . 1,4191 = 0,0096 g Phenacetursäure. Wenn also geringe Verunreinigungen mit in das Sublimat gehen, werden die Endresultate stark beeinflusst.

Aromatische Oxysäuren.

Von aromatischen Oxysäuren, die Hydroxyl am Benzolkern enthalten, hat Baumann im normalen Harn zwei, die Paraoxyphenylessigsäure und die Paraoxyphenylpropionsäure entdeckt; sie finden sich ausnahmslos im Harn des Menschen, Pferdes, Hundes, Kaninchens, auch im Harn der Hühner in geringer Menge. Sie entstehen bei der Fäulnis des Eiweisses im Darm oder auch in den Geweben (Baumann). Dass sie nicht nur bei der Darmfäulnis entstehen, ergibt sich nach Baumann daraus, dass auch bei Unterdrückung der Darmfäulnis Oxysäuren, wenn auch in geringerer Menge, im Harn noch ausgeschieden werden, während die Phenolschwefelsäuren vollständig verschwinden. Auch im Harn von Tieren mit sterilem Darm finden sie sich nach Nuttall und Thierfelder, während die Phenole fehlen. Im Liter normalen Menschenharns sind ungefähr 0,01 bis 0,02 g derselben enthalten (Baumann, Magnus-Levy). An Phenol reiche, pathologische Harne enthalten 2—8 mal so viel von diesen Oxysäuren, namentlich reich daran ist der Harn bei der akuten Phosphorvergiftung, sowie nach Blendermann[1]) nach der Verfütterung von Tyrosin. Diese Oxysäuren kommen grossenteils als solche im Harn vor, ein kleinerer Teil aber auch als Ätherschwefelsäure. Ferner gehören hierher die Oxyphenylmilchsäure, welche bei Phosphorvergiftung und nach Tyrosinfütterung gefunden wurde; die Gallussäure als zeitweiliger Bestandteil des Pferdeharns und die Homogentisinsäure.

I. Die Oxysäuren des normalen Harns.

1. Paraoxyphenylessigsäure.

$$C_8H_8O_3.$$

$$HO . C_6H_4—CH_2 . COOH.$$

A. Eigenschaften. Die Eigenschaften der Paraoxyphenylessigsäure sind von H. und E. Salkowski[2]), sowie von Baumann ermittelt worden.

[1]) E. Baumann, Ber. d. chem. Gesellsch. **12**. 1450; **13**. 279; Zeitschr. f. physiol. Ch. **4**. 304 u. 307.; **10**. 126. — G. H. F. Nuttall u. H. Thierfelder, Ztschr. f. physiol. Ch. **22**. 73. 1896. — A. Magnus-Levy, Festschr. f. E. Salkowski, S. 253. Berlin 1904. — Blendermann, Ztschr. f. physiol. Ch. **6**. 247.

[2]) H. Salkowski, Ber. d. chem. Gesellsch. **12**. 1438. — E. Salkowski und H. Salkowski, ebenda. **12**. 650. 1879.

Digitized by Google

1. Sie krystallisiert aus kaltem Wasser in farblosen, prismatischen, meist flachen, äusserst spröden Nadeln, oder in derben glasglänzenden Prismen, schmilzt bei 148⁰, verflüchtigt sich bei stärkerem Erhitzen zum Teil unzersetzt und ist im Wasserdampfstrom nicht flüchtig.

2. Sie löst sich ziemlich leicht in kaltem Wasser, sehr leicht in heissem Wasser, weniger leicht in salzsäurehaltigem; sie löst sich ferner sehr leicht in Alkohol und in Äther, schwer in Benzol und scheidet sich beim Erkalten der heissen Benzollösung fast vollständig wieder ab. In Wasser und in siedendem Benzol löst sie sich etwas schwerer als die p-Oxyphenylpropionsäure.

3. Ihre Alkalisalze sind in Wasser leicht löslich; das Ammonsalz krystallisiert in langen feinen Nadeln. Das Kalksalz $(C_8H_7O_3)_2Ca + 4\,H_2O$ scheidet sich aus seiner stark konzentrierten Lösung in durchsichtigen, tafelförmigen Krystallen ab. Das Barytsalz krystallisiert beim schnellen Erkalten der konzentrierten Lösung in feinen Nadeln. — Mit Kupfer-, Zink- und Cadmiumsalzen gibt die Lösung des Ammonsalzes amorphe weisse, sich im Licht färbende Niederschläge, die sich in viel siedendem Wasser lösen und aus der Lösung teils amorph, teils in mikroskopischen Nadeln wieder ausfallen; das Silbersalz hat die Zusammensetzung $C_8H_7AgO_3$. — Ein eigentümliches Verhalten zeigt das Bleisalz. Essigsaures Blei gibt mit sehr verdünnten Lösungen des Ammonsalzes anfangs keinen Niederschlag, aus konzentrierten Lösungen dagegen fällt ein dichtes, körnig-krystallinisches Salz aus, das sich in überschüssiger Bleizuckerlösung löst, sich aber aus dieser Lösung wieder allmählich abscheidet. Der Niederschlag löst sich in viel siedendem Wasser, und aus dieser Lösung setzt sich ein Salz $(C_8H_7O_3)_2Pb$ in trüben, etwas gelblich grauen, harten Krystallkörnern ab, (kleine Drusen). Dasselbe Salz scheidet sich auch aus den anfangs klar gebliebenen Mischungen ab. Bei längerem Stehen der Lösung bilden sich ausserdem noch durchsichtige bräunlichgelbe, glänzende Krystalle, $(C_8H_7O_3)_2Pb + 2\,H_2O$, sämtlich Zwillinge, wie es scheint des triklinischen Systems.

4. Die wässerige Lösung der Säure färbt sich auf Zusatz von Eisenchlorid im ersten Augenblick grauviolett, darauf wenig intensiv schmutziggrün.

5. Beim Kochen mit salpetersaurem Quecksilberoxyd und salpetrigsaurem Kali färbt sich die Lösung intensiv rot (Millonsche Reaktion).

6. Mit Bromwasser gibt sie einen sich langsam absetzenden Niederschlag.

7. Das Kalksalz liefert bei der Destillation mit Natronkalk Parakresol; dieselbe Zersetzung erleidet die Paraoxyphenylessigsäure, wenn sie in verschlossenen Gefässen mit Pankreassaft in Fäulnis versetzt wird.

B. Darstellung der Oxysäuren (I.). Nach Baumann[1] werden grosse Mengen (50 Ltr.) frischen Harns zum dünnen Sirup verdunstet, stark mit Essigsäure angesäuert und mit Äther ausgezogen. Der Äther wird wiederholt mit überschüssiger Sodalösung geschüttelt, die alkalische Lösung angesäuert und wieder mit reinem Äther ausgeschüttelt. Vom ätherischen Auszug wird der Äther abdestilliert und die rückständige Lösung auf dem Wasserbade erwärmt, bis der grösste Teil der Essigsäure verjagt ist. Man löst in wenig Wasser, fällt mit neutralem

[1]) Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. 6. 191. 1882.

Digitized by Google

essigsaurem Blei aus und schlägt im Filtrate die Oxysäuren mit basisch essigsaurem Blei nieder. Der Niederschlag wird gewaschen, abgepresst, in Wasser verteilt, mit Schwefelwasserstoff zersetzt und die Lösung wieder mit Äther ausgezogen. Nach dem Verdunsten des Äthers hinterbleibt ein stark saurer gelber Sirup, der meist nach einiger Zeit krystallinisch erstarrt. Tritt auch nach längerem Stehen keine Krystallisation ein, so löst man den Sirup in Wasser, kocht die Lösung mit kohlensaurem Baryt und scheidet aus der Lösung der Barytsalze die Säuren von neuem ab. Die Säuren aus Menschenharn erstarren stets nach einigen Tagen krystallinisch, die aus Hunde- und Pferdeharn krystallisieren schwieriger. Die Krystalle werden abgepresst und aus wenig Wasser umkrystallisiert. Die Paraoxyphenylessigsäure krystallisiert dabei in langen durchsichtigen Prismen und wird durch einmaliges Umkrystallisieren aus viel Benzol völlig rein erhalten. In der wässerigen Mutterlauge befindet sich neben der Oxyphenylpropionsäure ein Rest Paraoxyphenylessigsäure.

Magnus-Levy[1]) kürzt das Verfahren bis zur Fällung mit Bleiessig bezw. mit Bleiessig und Ammoniak in folgender Weise ab: 100 Liter frischer Menschenharn werden stark eingeengt, mit Ammonsulfat gesättigt, filtriert und im Extraktionsapparat 8—16 Stunden mit Äther extrahiert. Der Ätherrückstand wird in Wasser aufgenommen, zur Entfernung von Verunreinigungen mit Bleiacetat gefällt und das Filtrat mit Bleiessig versetzt und nach Baumann weiter behandelt.

C. Nachweis. An diesen Oxysäuren (I.) reiche Harne geben nach Blendermann[2]) die Millonsche Reaktion (A. 5) schon in der Kälte und nach kurzer Zeit, während sie bei Gegenwart von viel Phenolen und Abwesenheit der Oxysäuren in der Kälte nur ganz allmählich auftritt. Eine sichere Überzeugung von der Gegenwart der Oxysäuren überhaupt kann man sich nach Baumann in folgender Weise verschaffen. Man erwärmt etwa 20 ccm Harn nach Zusatz von Salzsäure zur Vertreibung der flüchtigen Phenole einige Zeit im Wasserbad, zieht die Flüssigkeit nach dem Erkalten dreimal mit Äther aus, schüttelt den Auszug mit schwacher Sodalösung, welche die Oxysäuren aufnimmt, den Rest der Phenole aber im Äther lässt. Die alkalische Lösung wird darauf mit Schwefelsäure schwach angesäuert und abermals mit Äther ausgeschüttelt. Man verdunstet den abgehobenen Äther, löst den Rückstand in wenig Wasser und stellt mit dieser Lösung nach A. 5 die Millonsche Reaktion an. Eine Rotfärbung der Flüssigkeit zeigt die Oxysäuren an, und die Intensität derselben gestattet selbst, wenn man den Rückstand des letzten Ätherauszuges immer in derselben Menge Wasser löst, eine annähernde Schätzung des Gehalts des Harns an Oxysäuren. Etwa beigemengte Indolessigsäure beeinträchtigt die Reaktion nicht.

Um die Paraoxyphenylessigsäure selbst nachzuweisen, muss sie nach B. isoliert werden. Zur Erkennung derselben dient die Millonsche Reaktion, ihre Färbung durch Eisenchlorid, das charakteristische Verhalten ihres Bleisalzes und vor allem ihr Schmelzpunkt.

---

[1]) A. Magnus-Levy, Festschr. f. E. Salkowski, Berlin. 1904. S. 253.
[2]) Blendermann, Ztschr. f. physiol. Ch. 6. 245.

Digitized by Google

2. Paraoxyphenylpropionsäure.

$C_9H_{10}O_3$.

$HO . C_6H_4—CH_2 . CH_2 . COOH$.

Syn.: **Hydroparacumarsäure.**

A. Eigenschaften. 1. Nach den Untersuchungen von Hlasiwetz und Malin, Buchanan und Glaser und von Baumann [1]) krystallisiert die Oxyphenylpropionsäure in kleinen, wohlausgebildeten, monoklinischen Prismen, schmilzt bei 125°, destilliert in stärkerer Hitze, wie es scheint, unzersetzt, und ist mit Wasserdämpfen in Spuren flüchtig.

2. Sie löst sich leicht in Wasser, in Alkohol und in Äther; in Benzol löst sie sich schwer, scheidet sich aber beim Erkalten der Benzollösung langsamer und weniger vollständig wieder aus, wie die Paraoxyphenylessigsäure.

3. Ihre Alkalisalze sowie das Kalk- und Barytsalz sind in Wasser sehr leicht löslich; das Ammonsalz bildet eine strahlige Krystallmasse, das Barytsalz $(C_9H_9O_3)_2Ba$ Krystallwarzen. — Die nicht zu verdünnte Lösung des Ammonsalzes gibt mit schwefelsaurem Zink einen krystallinischen Niederschlag, der nach dem Umkrystallisieren perlmutterglänzende Tafeln und Plättchen darstellt; das Salz besitzt die Zusammensetzung $(C_9H_9O_3)_2Zn + 2 H_2O$ und löst sich in 130 Teilen kaltem Wasser, leichter in heissem. Die verdünnte wässerige Lösung scheidet bei längerem Erhitzen einen flockigen Niederschlag von basischem Salz ab. — Das Kupfersalz $(C_9H_9O_3)_2 Cu + 2 H_2O$ setzt sich auf Zusatz von Kupferchlorid zu einer nicht zu verdünnten Lösung eines Alkalisalzes der Säure nach einiger Zeit in dunkelgrünen, glänzenden, kurzen Prismen ab; es löst sich schwer in Wasser, scheidet beim Kochen schwarzes Kupferoxyd ab, reduziert aber Kupferoxyd in alkalischer Lösung nicht. — Das Silbersalz entsteht als weisser amorpher Niederschlag; es ist ziemlich leicht löslich; aus verdünnten oder warmen Lösungen scheidet es sich in sehr kleinen, platten Nadeln aus. — Auch salpetersaures Quecksilberoxydul gibt mit der Lösung eines Salzes der Säure einen weissen Niederschlag. — Essigsaures Blei erzeugt im Ammonsalz einen weissen krystallinischen Niederschlag, der sich in überschüssiger Bleizuckerlösung wieder löst, in Bleiessig dagegen fast nicht.

4. Eisenchlorid färbt die kalt gesättigte wässerige Lösung der Säure deutlich blau, die Flüssigkeit trübt sich milchig und setzt einen harzartigen Körper ab, während das Filtrat noch blau gefärbt erscheint. — Sie färbt sich bei der Millonschen Probe selbst in starker Verdünnung noch intensiv rot. — Bromwasser gibt in der Lösung eine milchige Trübung. — Die kalt gesättigte Lösung der Säure färbt sich mit einigen Tropfen konzentrierter Salpetersäure unter schwachem Erwärmen rot, trübt sich dann und scheidet in einigen Stunden schöne lange Nadeln einer Nitroverbindung ab, die sich in Ammoniak mit tief roter Farbe lösen.

[1]) Hlasiwetz, Ann. d. Chem. u. Pharm. **142**. 358. 1867. — Buchanan u. Glaser, Ztschr. f. Ch. [2] **5**. 197. 1869. — Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **4**. 305. 1880; Ber. d. chem. Gesellsch. **13**. 281.

Digitized by Google

B. Darstellung. Die Oxyphenylpropionsäure findet sich in der wässerigen Mutterlauge der Paraoxyphenylessigsäure neben einem Rest dieser (s. I. 1. B.). Man verdampft sie zur Trockne und kocht den Rückstand mit einer zur völligen Lösung ungenügenden Menge Benzol. Beim Erkalten der Lösung krystallisiert die Oxyphenylpropionsäure noch gemengt mit Paraoxyphenylessigsäure aus. Ein Verfahren zur Trennung beider Säuren ist noch nicht bekannt.

C. Nachweis. Der Nachweis der Paraoxyphenylpropionsäure gestaltet sich ähnlich dem der Paraoxyphenylessigsäure; von dieser lässt sie sich am sichersten durch ihren Schmelzpunkt unterscheiden.

3. Paraoxybenzoesäure.

$$C_7H_6O_3.$$

$$HO—C_6H_4—COOH.$$

A. Vorkommen. Jaffe[1]) erwähnt gelegentlich ohne genauere Angaben über die Art der Identifikation, dass er aus normalem Pferdeharn p-Oxybenzoesäure erhalten habe.

Die Säure fand sich in einem Ätherextrakt, das aus 20 Liter Pferdeharn folgendermassen gewonnen war: Der Harn wurde mit Bleiacetat, das Filtrat vom entstandenen Niederschlag mit Bleiessig gefällt. Der abfiltrierte Niederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt und die Lösung erschöpfend mit Äther ausgeschüttelt. In diesem Ätherextrakt wurde die Säure neben Hippursäure, Phenacetursäure und Indolessigsäure nachgewiesen.

In grösseren Mengen wurde p-Oxybenzoesäure von Preusse aus dem Harn von Hunden nach Fütterung mit p-Kresol erhalten (1,5 g aus 15 g Kresol). Sie findet sich im Harn auch nach Verabreichung von p-Oxyphenylpropionsäure. p-Oxybenzoesäure selbst wird zum Teil unverändert, zum Teil an Glycocoll gebunden, zum Teil mit Schwefelsäure gepaart ausgeschieden. (Baumann und Herter[2]).

B. Eigenschaften. 1. Die Säure krystallisiert mit 1 Mol. Wasser in monoklinen Prismen aus Wasser. Das Krystallwasser verliert sie bei 100° und schmilzt bei 210°. Sie ist leicht löslich in heissem Wasser, Alkohol und Äther, sehr wenig in Chloroform und Schwefelkohlenstoff.

2. Mit Eisenchlorid gibt die wässerige Lösung der Säure braune Färbung.

3. Bei raschem Erhitzen zerfällt sie in Phenol und Kohlensäure.

[1]) M. Jaffe, Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. Suppl. Bd. 1908. (Festschrift f. O. Schmiedeberg) S. 302.

[2]) C. Preusse, Ztschr. f. physiol. Ch. 5. 59. 1881. — E. u. H. Salkowski, ebenda 7. 176. 1883. — E. Baumann u. E. Herter, ebenda 1. 256. 1877.

Digitized by Google

4. Durch überschüssiges Bromwasser wird sie in Kohlensäure und Tribromphenol zerlegt.

5. Millons Reagens fällt aus konzentrierter wässeriger Lösung einen weissen Niederschlag; beim Erhitzen tritt Rotfärbung ein.

II. p-Oxyphenylmilchsäure.

$C_9H_{10}O_4$.

$HO . C_6H_4 . CH_2 . CH(OH) . COOH$.

Syn.: **Oxyhydroparacumarsäure.**

Die Säure ist durch Einwirkung von Baryumnitrit auf in Schwefelsäure gelöstes l-Tyrosin, Ausäthern des Reaktionsprodukts und Umkrystallisieren des Ätherrückstandes aus Wasser von Kotake[1]) dargestellt worden.

A. Vorkommen. Kotake isolierte die Verbindung aus dem Harn von Hunden, die mit Phosphor vergiftet waren, in Mengen von einigen Milligrammen bis etwa 0,2 g. Nach Beobachtungen von Baumann kommt beim Menschen im Harn nach Phosphorvergiftung eine Säure vom gleichen Schmelzpunkt und, soweit untersucht, gleichen Eigenschaften vor. Auch die von Blendermann[2]) nach reichlicher Tyrosinfütterung (3 bezw. 6 g) im Kaninchenharn einmal gefundene Säure scheint p-Oxyphenylmilchsäure zu sein. Nach kleineren Dosen (1—2 g Tyrosin) fand sie Kotake nicht.

B. Eigenschaften. 1. Die Säure krystallisiert aus Wasser in langen Nadeln vom Schmelzpunkt 167—168° (Kotake), bezw. 170 bis 171° (Schmitz)[3]). Sie enthält $^1/_2$ Mol. Krystallwasser. Die spezifische Drehung beträgt —18° (Kotake).

d-l-Oxyphenylmilchsäure, die bequem durch Reduktion von p-Oxyphenylbrenztraubensäure mit Natriumamalgam zu erhalten ist (Neubauer), krystallisiert ebenfalls mit $^1/_2$ Mol. Wasser. Der Schmelzpunkt der racemischen Säure liegt sowohl für die wasserfreie wie für die wasserhaltige Säure bei 144° (Kotake). Eine von Erlenmeyer und Lipp[4]) aus racemischem Tyrosin mit salpetriger Säure erhaltene Säure, deren Analyse ebenfalls auf Oxyphenylmilchsäure stimmte, schmolz dagegen im wasserhaltigen Zustand bei 115—122°, wasserfrei bei 144°. Die Differenz erklärt sich wahrscheinlich durch Beimengung eines Nitroprodukts (Kotake).

---

[1]) Y. Kotake, Ztschr. f. physiol. Ch. **65**. 397. 1910.

[2]) E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **6**. 192. 1882. — E. Blendermann, ebenda **6**. 256. 1882.

[3]) Y. Kotake, Ztschr. f. physiol. Ch. **69**. 409. 1910. — E. Schmitz, Biochem. Ztschr. **28**. 119. 1910.

[4]) O. Neubauer, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **95**. 211. 1908. — E. Erlenmeyer u. Lipp, Liebigs Ann. **209**. 226. 1883.

Digitized by Google

2. Durch Kochen der Säure mit frisch gefälltem Calciumcarbonat erhält man das Kalksalz, das mit $4^1/_2$ Mol. Krystallwasser krystallisiert (Kotake).

Durch Bleiessig wird die Säure fast quantitativ gefällt, nicht durch Bleiacetatlösung.

3. Bei Injektion an Kaninchen erscheinen sowohl l- als d-l-Oxyphenylmilchsäure fast vollständig unverändert im Harn (Kotake).

C. Darstellung. Zur Isolierung der Säure aus dem Harn nach Phosphorvergiftung wurde dieser auf dem Wasserbad eingedampft, der Rückstand mit heissem Alkohol extrahiert, nach Verjagen des Alkohols das Extrakt mit Wasser aufgenommen, mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit Äther erschöpfend ausgeschüttelt. Nach dem Verdunsten des Äthers blieben Krystalle zurück, die, zweimal aus Wasser umkrystallisiert, rein waren (Kotake).

Schultzen und Riess[1]) isolierten bei mehreren Fällen von akuter Leberatrophie aus dem Harn eine Säure, deren Analyse auf die Formel $C_8H_8O_4$ stimmte. Die Darstellung erfolgte im wesentlichen ebenso wie die für Oxyphenylmilchsäure beschriebene, nur dass der Ätherrückstand noch mit Bleizucker und dann mit Bleiessig gefällt wurde und aus der Bleiessigfällung durch Zersetzung mit Schwefelwasserstoff die Säure rein dargestellt wurde.

Die Krystalle enthielten $^1/_2$ Mol. Krystallwasser und schmolzen bei 162°, das Kalksalz enthielt 2 Mol. Krystallwasser. Beim Erhitzen für sich oder mit Kalkhydrat lieferte die Säure Phenol.

Schultzen und Riess geben auf Grund ihrer Analysen der Säure die Formel einer Oxymandelsäure

$$C_6H_4\begin{cases}OH\\ CH.OH.COOH\end{cases}$$

Ellinger und Kotake zeigten aber durch Synthese der racemischen wie der optisch aktiven Oxymandelsäuren, dass die Säure von Schultzen und Riess von diesen verschieden ist. Ob auch hier Oxyphenylmilchsäure vorlag, lässt sich nachträglich nicht entscheiden. Die Verschiedenheit der Säuren wurde von Fromherz bestätigt. Nach einer kurzen Angabe von Neubauer[2]) soll die bei akuter, gelber Leberatrophie beobachtete Säure mit der l-p-Oxyphenylmilchsäure identisch sein.

[1]) O. Schultzen u. L. Riess, Ann. d. Charitékrankenhauses **15**. 74. 1869.

[2]) A. Ellinger u. Y. Kotake, Ztschr. f. physiol. Ch. **65**. 402. 1910. — K. Fromherz, ebenda **70**. 351. 1911. — O. Neubauer, Zentralbl. f. Physiol. **25**. 1104. 1911.

Digitized by Google

Nach derselben Methode erhielten Schultzen und Riess[1]) aus dem Ätherextrakt von Harn bei akuter Phosphorvergiftung warzige Gruppen von zarten, farblosen, rhombischen Plättchen einer neuen aromatischen, stickstoffhaltigen Säure. (Beim Schmelzen mit Kalium lieferte dieselbe Cyan und bei der Destillation mit Kalk trat Anilin auf.) Die Säure schmolz konstant bei 184—185°, bräunte sich dabei und erstarrte erst unter 100° teilweise. Ihre wässerige Lösung reagierte stark sauer und bildete bei der Behandlung mit kohlensaurem Baryt ein in Nadeln krystallisierendes, in Wasser ungemein lösliches Barytsalz. Bleizucker und Bleiessig fällten das Salz nicht, salpetersaures Silber gab aber mit der konzentrierten Lösung einen käsigen Niederschlag, der sich unter geringer Bräunung in kochendem Wasser löste und beim Erkalten in glänzenden weissen, zu Drusen angeordneten Nadeln anschoss; dieses Silbersalz war wasserfrei und enthielt 33,92% Silber.

III. Gallussäure.

$C_7H_6O_5$.

$$C_6H_2\begin{cases} COOH & (1) \\ OH & (3) \\ OH & (4) \\ OH & (5) \end{cases}$$

A. Vorkommen. Sie findet sich nach Baumann[1]) zuweilen im Pferdeharn in deutlich nachweisbarer Menge; ihr Auftreten im Harn ist ohne Zweifel durch die mit der Nahrung aufgenommenen Gerbstoffe bedingt.

B. Eigenschaften. 1. Seidenglänzende Nadeln oder trikline Prismen mit 1 Mol. H_2O. Sie schmilzt bei 222—240° unter Zersetzung zu Pyrogallol $C_6H_3(OH)_3$ und Kohlensäure, löst sich in 130 Teilen kaltem und in 3 Teilen siedendem Wasser, leicht in absolutem Alkohol, schwerer in Äther.

2. Die Säure selbst wird durch Bleizucker gefällt.

3. Eine Lösung der Säure bräunt sich mit Alkalien und reduziert Kupferhydroxyd in alkalischer, Silberoxyd in ammoniakalischer Lösung. Sie gibt mit Eisenchlorid (und anderen Eisenoxydsalzen) unter Reduktion desselben zu Eisenoxyduloxyd einen blauschwarzen im Überschuss des Eisenchlorids mit grüner Farbe löslichen Niederschlag. Der Bleiniederschlag wird durch Kalilauge schön karminrot und löst sich im Überschuss der Lauge mit himbeerroter Farbe (Harnack)[2]).

4. Gegen Millonsches Reagens verhält sich die Gallussäure so, dass man die Reaktion bei oberflächlicher Betrachtung mit einer echten Millonschen verwechseln könnte. Sie gibt mit dem fertigen Reagens und ebenso mit salpetersaurem Quecksilberoxyd allein einen ziegelroten Niederschlag, der aber beim Kochen graubraun wird; setzt man der (schwach gelben) heissen Flüssigkeit, welche nach dem Zusatz von Mercurinitrat allein entstanden ist, salpetrigsaures Kali zu, so wird der Niederschlag grau und schwammig und die Flüssigkeit rotorange, selbst dunkelrot. — Versetzt man den ziegelroten Niederschlag in der Kälte mit Kaliumnitrit, so wird er weiss; kocht man darauf, so erhält man, je nach den gegenseitigen Mengenverhältnissen, einen ockergelben oder braunroten Niederschlag in einer gelben oder dunkel rotgelben Flüssigkeit (Huppert).

C. Darstellung. Die rohen Oxysäuren (s. I. 1. B.) aus Pferdeharn werden mit Bleizucker ausgefällt, der Niederschlag ausgewaschen, mit Salzsäure oder Schwefelsäure zerlegt und die Flüssigkeit mit Äther ausgeschüttelt. Der Rückstand, welchen die ätherische Lösung beim Verdunsten hinterlässt, wird in Wasser gelöst und die Lösung zur Krystallisation verdunstet.

D. Bestimmung der Gallussäure s. bei Homogentisinsäure S. 862.

---

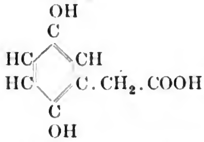
[1]) Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. **6**. 193.

[2]) E. Harnack, Arch. d. Pharm. **234**. 517; Chem. Zentralbl. 1896. II. 804.

Digitized by Google

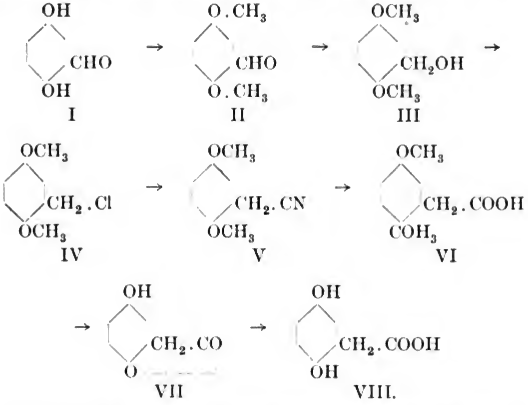
IV. Homogentisinsäure (Alkaptonurie)*).

$C_8H_8O_4$.



Syn.: 1,4 Dioxyphenyl-3-Essigsäure, Hydrochinonessigsäure.

Die Konstitution der Säure folgt aus der von Baumann und Fränkel[1]) ausgeführten Synthese. Der durch Einwirkung von Chloroform und Kalilauge auf Hydrochinon erhältliche Gentisinaldehyd (I) wurde in den Dimethylgentisinaldehyd (II) übergeführt, der zum Alkohol (III) reduziert wurde; aus dem Alkohol wurde das Chlorid (IV), aus diesem das Cyanid (V) gewonnen. Das letztere liefert beim Verseifen die Dimethylhomogentisinsäure (VI), aus welcher das Lacton der Homogentisinsäure (VII) und diese selbst (VIII) erhalten wurde:



Harne, die Homogentisinsäure enthalten, sind ausgezeichnet durch besondere Reduktionsfähigkeit, ohne die übrigen Eigenschaften der zuckerhaltigen Harne zu haben, und durch die Eigenschaft nach Zusatz

*) Von Alkali und κάπτειν = begierig verschlucken.

1) E. Baumann u. S. Fränkel, Ztschr. f. physiol. Ch. **20**. 219. 1894.

Digitized by Google

von Alkalien unter Sauerstoffabsorption sich dunkelbraun bis schwarz zu färben.

Boedeker, welcher auf die Säure zuerst aufmerksam machte, hat sie nur in unreinem Zustand vor sich gehabt; die Substanz war amorph und enthielt noch Stickstoff; er nannte sie Alkapton. Ebstein und Müller gewannen aus Harn einen dem Alkapton sehr ähnlichen Körper in rechtwinkligen Säulen (aus Wasser), hielten ihn aber für Brenzcatechin. W. Smith gelangte zu der Ansicht, die Säure sei Protocatechusäure, wogegen Kirk u. a. geltend machte, dass die Protocatechusäure die Fehlingsche Flüssigkeit nicht reduziert, während es die fragliche Säure tut; er gab ihr deshalb einen anderen Namen: Urrhodinsäure, doch war diese Säure noch keineswegs rein, sondern noch von phenolartiger Substanz begleitet. Marshall hat die Homogentisinsäure als Glycosursäure beschrieben (Baumann), und Kirk im Verein mit Gibson die „Uroleucinsäure" in analysierbarem Zustand dargestellt. Danach entdeckten Wolkow u. Baumann[1]) die Homogentisinsäure und unterwarfen sie einer eingehenden Untersuchung. Die ältere Literatur über die Alkaptonsäuren ist von Wolkow u. Baumann zusammengestellt.

Die Homogentisinsäure ist seitdem oft aufgefunden worden, auch in dem Fall von Kirk und Huppert, bei dem diese die Uroleucinsäure oder Hydrochinonmilchsäure gefunden hatten. Der Befund dieser Säure beruht nach Garrod und Hurtley auf einem Irrtum. Originalpräparate von Kirk, dem Huppert sein Material verdankte, ergaben bei der Nachuntersuchung durch Garrod und Hurtley, dass es sich um verunreinigte Homogentisinsäure handelte, und aus neuen Urinproben des Kirkschen Falles liess sich neben der Homogentisinsäure keine zweite Alkaptonsäure gewinnen. Überdies zeigten Neubauer und Flatow[2]), dass die synthetisch gewonnene Hydrochinonmilchsäure sich in ihren Eigenschaften von der Uroleucinsäure Kirks und Hupperts unterscheidet.

A. Vorkommen. Die Homogentisinsäure ist ebenso häufig im Harn von Kindern als von Erwachsenen beobachtet worden, einige Male bei Geschwistern. In der Regel hält die Alkaptonurie das ganze Leben lang an. Gesundheitsstörungen sind mit ihr nicht verbunden, sie kann aber auch bei Kranken vorhanden sein. Das Vorkommen von vorübergehender Alkaptonurie (Zimnicki, Geyger, Hirsch) bedarf noch der Bestätigung.

Die im Harn enthaltene Menge beträgt nach Bestimmungen

[1]) Boedeker, Ztschr. f. rat. Med. [3] 7. 138. 1859; Ann. d. Ch. u. Pharm. 117. 98. 1861. — W. Ebstein u. J. Müller, Virchows Archiv 62. 554. 1875. — W. Smith, Dublin Journal of med. Sc. 2. 1882. 465; Virchow-Hirschs Jahrber. 1882. 1. 166. — R. Kirk, Brit. med. Journ. November 27. 1886. 1017. — J. Marshall, Amer. Journ. of Pharm. 59. 131. March 1887; Ztschr. f. analyt. Ch. 27. 120. 1888; Chem. Zentralbl. 1887. 724; Med. News, Jan. 8. 1887; Jahresber. f. Tierch. 1887. 225. — Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. 18. 306. 1893. — Rob. Kirk, Brit. med. Journ. Aug. 4. 1888. 232; Journ. of Anat. and Physiol. 23. 69. — M. Wolkow u. E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. 15. 228. 1891.

[2]) A. E. Garrod, Med.-chirurg. Transactions 82. 367. 1899 (dort die Kasuistik bis zum Jahre 1899). Die neuere Literatur ist in den Croonian Lectures 1908 von A. E. Garrod, Inborn errors of metabolism. London 1909, Kap. III, S. 40—81 zu finden. — A. E. Garrod u. W. C. Hurtley, Journ. of physiol. 36. 136. 1907. — O. Neubauer u. L. Flatow, Ztschr. f. physiol. Ch. 52. 357. 1907.

Digitized by Google

von Wolkow und Baumann, Ogden, sowie Stange 0,2 bis 0,4 % oder 3—6 g in der Tagesmenge. Die grössten beobachteten Mengen sind 16,5 in einem Falle von Zimper, 16—18 g im Falle von Gross und Allard[1]). Bei ausschliesslicher Fleischkost ist sie (um ein Viertel bis über das Doppelte) grösser als bei gemischter Kost (Wolkow und Baumann, Ogden). Gärungswidrige Substanzen und Abführmittel wie Kefir, Terpentilöl, Rizinusöl, Magnesia usta, Karlsbader Salz (Embden, Stange) sind ohne Einfluss auf die Menge der ausgeschiedenen Homogentisinsäure.

Von den in den Eiweisskörpern enthaltenen Aminosäuren bewirken Tyrosin und Phenylalanin eine Vermehrung der Homogentisinsäure. Während gesunde Menschen von der eingegebenen Säure nur wenig ausscheiden, erscheinen beim Alkaptonuriker nach Embden, dessen absolute Werte wohl zu niedrig gefunden wurden (s. E. 1), von 10 g 7,5 g im Harn wieder; nach Grutterinck und Hijmans v. d. Bergh wird die Säure vom Alkaptonuriker quantitativ wieder ausgeschieden, im Gegensatz zu Embden fanden sie die Toleranz normaler Personen beschränkt; in einigen Fällen von schwerem Diabetes und Lebererkrankungen sahen Falta, Langstein u. a.[2]) die Toleranz ebenfalls vermindert.

Fast die berechnete Menge tritt im Harn nach Zufuhr von 10 g l-Tyrosin auf (Wolkow und Baumann, Embden, Mittelbach, Schumm). Von 5 g Phenylalanin fanden Falta und Langstein etwa 89% als Homogentisinsäure im Harn. Dipeptide des Tyrosins und Phenylalanins liefern die ihrem Gehalt an diesen Aminosäuren entsprechenden Mengen Homogentisinsäure (Abderhalden, Bloch und Rona)[3]).

Unter der Annahme, dass die Homogentisinsäure auch beim normalen Menschen ein intermediäres Abbauprodukt der aromatischen Eiweisskomponenten darstellt, das beim Alkaptonuriker der weiteren Oxydation entzogen bleibt, haben namentlich Neubauer und Falta, Neubauer allein und Blum[4]) eine grosse Reihe von aromatischen Substanzen auf ihr Verhalten im Stoffwechsel des Alkaptonurikers ge-

[1]) H. V. Ogden, Ztschr. f. physiol. Ch. **20**. 280. 1894. — P. Stange, Virchows Arch. **146**. 86. 1896. — H. Embden, Ztschr. f. physiol. Ch. **17**. 182. 1892; 18. 304. 1893. — O. Zimper, Über Alkaptonurie. Inaug.-Diss. Würzburg 1903. — O. Gross u. E. Allard, Ztschr. f. klin. Med. **64**. 359. 1907.

[2]) A. Grutterinck u. A. A. Hijmans v. d. Bergh, Ned. Tijdschr. v. Geneesk. 1907. II. 1117 zit. n. Jahresb. f. Tierch. **37**. 863. — W. Falta u. L. Langstein, Ztschr. f. physiol. Ch. **37**. 513. 1903.

[3]) F. Mittelbach, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **71**. 50. 1901. — O. Schumm, Münch. med. Woch. 1904. 1599. — E. Abderhalden, B. Bloch u. P. Rona, Ztschr. f. physiol. Ch. **52**. 435. 1907.

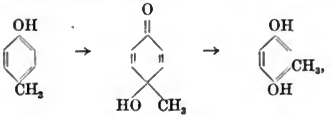
[4]) O. Neubauer u. W. Falta, Zeitschr. f. physiol. Ch. **42**. 81. 1904. — O. Neubauer, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **95**. 211. 1909. — L. Blum, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. **59**. 269. 1908.

Digitized by Google

prüft. Von den Resultaten mag hier hervorgehoben werden, dass wie die genannten Aminosäuren sich die Phenylmilchsäure und Phenylbrenztraubensäure, sowie die p-Oxyphenylbrenztraubensäure verhalten, während p-Oxyphenylmilchsäure keine Vermehrung der Homogentisinsäure im Harn bewirkt. Auch Tryptophan wird nicht in Homogentisinsäure umgewandelt.

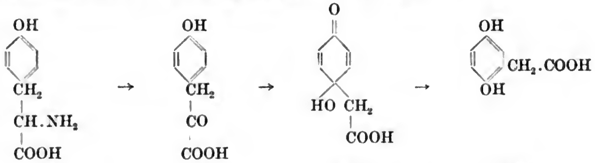
Die Umwandlung des Tyrosins in Homogentisinsäure wird wohl am besten durch folgendes von Neubauer im Anschluss an Ausführungen von E. Meyer und Friedmann und an experimentelle Untersuchungen über chinolartige Verbindungen (Bamberger, Kumagai und Wolffenstein) vorgeschlagene Schema veranschaulicht:

Wie p-Kresol (I) durch Kaliumpersulfat und Schwefelsäure über p-Toluchinol (II) zu Homohydrochinon oxydiert wird:



I II III

so geht Tyrosin (IV), bzw. Oxyphenylbrenztraubensäure (V) durch gleichzeitige Oxydation an der Seitenkette und am Kern über das chinolartige, hypothetische Zwischenprodukt (VI) in Homogentisinsäure (VII) über:



IV V VI VII

Nach den quantitativen Bestimmungen, die darüber vorliegen, scheint beim Alkaptonuriker die Stoffwechselstörung, die darin besteht, dass die aromatischen Komplexe der Eiweisskörper nicht weiter abgebaut werden, stets eine komplette zu sein. Das Verhältnis der Homogentisinsäure zum Gesamt-Stickstoff (Hs : N) beträgt meist etwa 50: 100 und hängt nur von der Eiweisszersetzung und dem Gehalt der zersetzten Eiweisskörper an aromatischen Komplexen (E. Meyer, Langstein u. Meyer, Falta), nicht von verschiedenen Graden der Stoffwechselanomalie ab (Garrod und Hele)[1].

Gross und Allard widersprechen der Annahme, dass die Stoffwechselstörung meist eine komplette sei und weisen auf die Unsicherheit unserer Kenntnisse über den Gehalt der Eiweisskörper an aromatischen Gruppen hin. Sie fanden in ihrem Falle für den Quotienten Hs : N einen Mittelwert von 70 : 100. Der Wert stieg sogar auf 86,3 bei Darreichung von 30 g Natriumbicarbonat und auf 83,4 bei hohem Fieber.

Ob die Homogentisinsäure als normales intermediäres Stoffwechselprodukt anzusehen ist, das der Alkaptonuriker nicht weiter abbauen kann, während sie normalerweise über Acetessigsäure weiter oxydiert wird

[1]) E. Meyer, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 70. 443. 1901. — L. Langstein u. E. Meyer, ebenda 78. 161. 1903. — W. Falta, ebenda 81. 231. 1904. — A. E. Garrod and T. S. Hele, Journ. of physiol. 33. 197. 1905.

Digitized by Google

(Embden, Salomon und Schmidt), oder ob bei ihm eine andere Art des Abbaus statthat, ist noch nicht entschieden. Nach Garrod (S. 67—73) spricht mehr zugunsten der ersten Ansicht. Dagegen halten Wakemann und Dakin[1]) es für wahrscheinlicher, dass die Alkaptonurie eine Stoffwechselstörung ist, bei der die Bildung der Homogentisinsäure ebenso abnorm ist wie die Unfähigkeit, die gebildete Säure zu zerstören. Denn sie sahen, dass p-Methylphenylalanin und p-Methoxyphenylalanin, die nach ihrer Konstitution nicht die oben erwähnte Umwandlung in p-Chinonderivate erleiden können, einerseits in der normalen Leber auch in Acetessigsäure übergehen, andererseits vom Alkaptonuriker verbrannt werden.

Ein Zusammenhang mit anderen Erkrankungen hat sich bisher nicht feststellen lassen; als Folgeerscheinung der Alkaptonurie scheint bisweilen Ochronose aufzutreten (Lit. s. bei Garrod, S. 44 ff.).

Abderhalden[2]) konnte einmal aus dem Harn eines Menschen, der 50 g l-Tyrosin verzehrt hatte, einige Dezigramme Homogentisinsäure rein darstellen.

B. Eigenschaften. 1. Die Säure bildet farblose Prismen vom Schmelzpunkt 147°, löst sich leicht in Wasser, Alkohol und Äther, in Chloroform, Benzol und Toluol ist sie auch in der Wärme fast unlöslich. Sie krystallisiert mit 1 Mol. Wasser, das sie an der Luft teilweise, vollständig über Schwefelsäure in 24 Stunden verliert. Bei 100° verliert sie ein weiteres Molekül Wasser unter Lactonbildung. Wenig über 100° sublimieren feine, in Wasser unlösliche Nadeln des Lactons vom Schmelzpunkt 191°.

Die Säure wird am besten aus Wasser umkrystallisiert, aber nur mit grossen Verlusten. Die wasserfreie Säure erhält man in durchsichtigen Blättchen, wenn man zu der Lösung in wenig absolutem Alkohol siedendes Chloroform im Überschuss hinzugibt und langsam erkalten lässt (Wolkow und Baumann).

2. Die wässerige Lösung der Säure färbt sich bei längerem Stehen an der Luft dunkel. Mit Ammoniak oder Natronlauge tritt meist sofort Braun- oder Schwarzfärbung ein, ebenso wirken auch schon Alkalicarbonate (s. auch unter 7). Mit Silberlösung entsteht im ersten Augenblick keine Reaktion, nach wenigen Sekunden aber färbt sich die Flüssigkeit dunkel, während metallisches Silber abgeschieden wird. Die Reduktion erfolgt augenblicklich, wenn man ammoniakalische Silberlösung anwendet. Fehlingsche Lösung wird langsam in der Kälte reduziert. Eine 1%ige Lösung gibt bei der Wismutprobe keine, und selbst eine 5%ige Lösung nur eine undeutliche Reduktion.

[1]) G. Embden, H. Salomon u. F. Schmidt, Hofmeisters Beitr. 8. 153. 1906. — A. J. Wakeman and H. D. Dakin, Journ. of biol. chem. 9. 129. 1911 und H. D. Dakin, ebenda 9. 151. 1911.

[2]) E. Abderhalden, Zeitschr. f. physiol. Chem. 77. 454. 1912.

Digitized by Google

Eisenchloridlösung gibt eine sehr rasch vorübergehende Blaufärbung, die noch bei einer Verdünnung von 1:4000 deutlich ist. Dabei entsteht Benzochinonessigsäure bzw. deren Chinhydron (s. B. 7.). Beim Kochen mit konzentrierter Eisenchloridlösung tritt der Geruch von Chinon auf (Wolkow und Baumann).

Mit Millons Reagens wird die wässerige Lösung (ebenso wie eine Hydrochinonlösung) gelb gefärbt, nach kurzer Zeit entsteht in der Kälte ein gelber amorpher Niederschlag, der sich beim Erhitzen ziegelrot färbt.

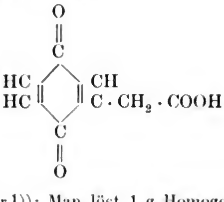
3. Das Bleisalz $(C_8H_7O_4)_2Pb, 3H_2O$ erhält man in farblosen oder bräunlichen, durchsichtigen, glänzenden Prismen auf Zusatz von Bleizucker oder Bleiessig zu einer nahe bis zum Sieden erhitzten 1%igen Lösung der Säure; beim Erkalten krystallisiert das Salz aus, vollständiger aus der mit Bleiessig als aus der mit Bleizucker versetzten Lösung. Auch eine mit Soda neutralisierte Lösung der Säure gibt mit Bleiacetat dasselbe Salz. Es löst sich bei 20° in 675 Teilen Wasser, in Bleiacetatlösung etwas leichter als in Wasser und zersetzt sich bei dem Versuch, es umzukrystallisieren. In Alkohol und in Äther ist es unlöslich. Das Krystallwasser entweicht nicht an der Luft, aber über Schwefelsäure oder bei 100°. Schmilzt bei 214—215° unter vollständiger Schwärzung.

4. Der Äthylester $C_8H_7O_4 . C_2H_5$ bildet farblose Prismen von Schmelzpunkt 119°—120°, ist schwer löslich in kaltem, leichter in heissem Wasser, leicht in Alkohol und in Äther, schwer in Benzol und in Chloroform. Er bildet sich schon beim Destillieren der ätherisch-alkoholischen Lösung, ist also in der rohen Säure enthalten, entgeht aber der Fällung mit Bleiacetat.

5. Tritt Luft zu dem bei der Sublimation gebildeten Dampf, so färbt sich das Sublimat, wie das Hydrochinon, blau.

6. Beim Schmelzen mit Kalihydrat geht die Säure in Gentisinsäure (Hydrochinoncarbonsäure) $C_6H_3(OH)_2COOH$ und in Hydrochinon über.

7. Durch Oxydation mit Chromsäure geht Homogentisinsäure in Benzochinonessigsäure



über (C. Th. Mörner[1])): Man löst 1 g Homogentisinsäure in 20 ccm

[1]) C. Th. Mörner, Zeitschr. f. physiol. Chem. 78. 306. 1912.

Digitized by Google

Wasser, die mit 2 g Schwefelsäure angesäuert sind, kühlt auf 0⁰ ab und fügt tropfenweise unter Umrühren 2 ccm gesättigte Natriumbichromatlösung vom spez. Gew. 1,75 zu. Dabei treten goldglänzende, dünne Krystalltafeln in der dunkelgefärbten Flüssigkeit auf, die nach eintägigem Stehen bei 0^0 abfiltriert und mit Schneewasser gewaschen werden. Die Krystalle können u. a. aus Benzol bei Wasserbadwärme umkrystallisiert werden. Gegen Erwärmen in wässeriger Lösung sind sie sehr empfindlich. Sie schmelzen bei 130^0. Der Chinoncharakter zeigt sich u. a. in der Fähigkeit, Guajaktinktur und Jodkaliumstärkekleister blau zu färben. Die wässerige Lösung wird beim Stehen allmählich, schneller in der Wärme braun bis schwarzbraun, wobei teilweise Reduktion zu Homogentisinsäure stattfindet.

Homogentisinsäure gibt mit Benzochinonessigsäure in Acetonlösung in äquimolekularen Mengen zusammengebracht auf Zusatz von Benzol reichliche Ausscheidung dunkler Mikrokrystalle von fast schwarzem Metallglanz mit Stich ins Olivbraune, die bei 142^0 schmelzen und als das „eigne" Chinhydron der Homogentisinsäure $\left\{ \begin{array}{l} C_6H_3(OH)_2 . CH_2 . COOH \\ C_6H_3O_2 . CH_2 . COOH \end{array} \right.$ aufzufassen sind.

Das gleiche Chinhydron entsteht auch beim Zusammenbringen von Homogentisinsäure mit Benzochinon oder von Benzochinonessigsäure mit Hydrochinon, wobei intermediär Benzochinonessigsäure bzw. Homogentisinsäure entstehen müssen.

8. Alkaptochromreaktion (Mörner) [1]): Bei vorsichtig abgemessener Zufuhr von Luftsauerstoff zur ammoniakalisch gemachten Lösung der Säure oder des Alkapton-Harns nimmt die Flüssigkeit eine prachtvolle, intensive, rotviolette Färbung an. Um die Färbung zu erhalten, soll der Gehalt an Homogentisinsäure etwa $^1/_4$—2%, an NH_3 1—4% betragen. In zylindrischen Gefässen bei 20 ccm Flüssigkeitsmenge soll der Gefässdurchmesser 0,75—2 cm betragen. Je nach dem Verhältnis der Luftoberfläche zum Volumen der Reaktionsflüssigkeit tritt die Alkaptochromreaktion schneller oder langsamer ein; unter den genannten Bedingungen nach einem Tage, bei relativ geringerem Luftzutritt erst nach mehreren Tagen. Nach Erreichung eines Höhepunktes tritt Abnahme der reinen Färbung ein. Viele Salze, Alkalien, auch manche organische Substanzen hemmen die Reaktion. Mörner hat mittels eines langwierigen Verfahrens aus dem Reaktionsgemenge von 20 Litern Alkaptonharn einige Dezigramme eines krystallisierten α-Alkaptochrom und eines amorphen β-Alkaptochrom genannten Farb-

[1]) C. Th. Mörner, Zeitschr. f. physiol. Ch. **69**. 329. 1910.

Digitized by Google

stoffes isoliert. Das erste ist in alkalischer Lösung violett und fluoresziert nicht, das zweite rot mit stark ausgeprägter Fluoreszenz in Gelbrot. Mörner nimmt als wahrscheinlich an, dass es bei der Farbstoffbildung sich um Übergang in ein Chinonimid-Derivat handelt.

Eine ähnliche Farbreaktion liefert auch das Lacton der Homogentisinsäure (Langstein und Meyer).

Die starke chromogene Natur der Homogentisinsäure zeigt sich auch darin, dass bei Alkaptonurikern nach Beobachtungen von Poulsen [1]) der Schweiss in den Achselhöhlen, in der Gegend der Pubes etc. öfter blaugrün oder grünspanfarben gefunden wird.

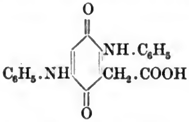
9. Versetzt man Alkaptonharn oder Homogentisinsäurelösung mit gesättigter, filtrierter Lösung von Anilin (bzw. Toluidin oder Xylidin) in reichlicher Menge und lässt die Mischung in niedrigen, flachen Gefässen, lose mit Papier bedeckt, einige Wochen stehen, so setzen sich allmählich dunkle amorphe, manchmal auch krystallinische Flocken ab. Sie werden mit 1%iger Kaliumcarbonatlösung, dann sorgfältig mit Wasser gewaschen, getrocknet, aus kochendem Eisessig umkrystallisiert, mit Tetrachlorkohlenstoff gewaschen, an der Luft und schliesslich über Schwefelsäure getrocknet. Sie schmelzen bei 228° und lösen sich in konzentrierter Schwefelsäure mit fuchsinroter Farbe, die nach einigen Minuten in kirschrot übergeht und nach 1 Stunde missfarbig, braunviolett wird. Die Zusammensetzung entspricht der Formel $C_{20}H_{16}N_2O_4$.

Mörner formuliert den Vorgang:

$$C_6H_3.CH_2.COOH.(OH)_2 + 2\,C_6H_5.NH_2 + 2\,O = C_6H.CH_2.COOH.O_2.(C_6H_5.NH)_2 + 2\,H_2O$$

Benzochinonessigsäuredianilid

und weist dem Reaktionsprodukt die Konstitutionsformel



zu.

In der gleichen Weise entsteht aus Hydrochinon das Benzochinon-2,5-dianilid vom Schmelzpunkt 89—90° (Hebebrand) [2]).

Das p-Toluidinderivat der Homogentisinsäure schmilzt bei 231°, löst sich in konzentrierter Schwefelsäure mit blauer Farbe, das m-Xylidinderivat färbt sich ebenso und schmilzt bei 241°.

10. Schüttelt man eine Lösung von Homogentisinsäure in Ammoniak oder Ammoniumcarbonat mit Benzoylchlorid und Natronlauge, so scheidet sich Dibenzoylhomogentisinsäureamid $(C_6H_5.CO.O)_2.C_6H_3.CH_2.CO.NH_2$ aus, das beim Eingiessen der heissen alkoholischen Lösung in kaltes Wasser als flockiger Niederschlag, beim Umkrystallisieren aus heissem Alkohol in feinen, farblosen Nadeln vom Schmelzpunkt 203—204° erhalten wird. Dieselbe Substanz entsteht auch beim

[1]) Poulsen, Om ochronotiske Tilstande hos Mennesker og Dyr, Kopenhagen 1910. S. 124, zit. n. Mörner.

[2]) A. Hebebrand, Ber. d. chem. Gesellsch. 15. 1973. 1882.

Digitized by Google

Benzoylieren von Alkaptonharn, ohne dass noch Ammoniak zugesetzt wird. Sie lässt sich mit nitrithaltiger Salpetersäure in Dibenzoylhomogentisinsäure vom Schmelzpunkt 179—180° überführen (Orton und Garrod)[1].

C. Darstellung. 1. Der native Harn wird nach Wolkow und Baumann auf das Liter mit 125—150 ccm 12%iger Schwefelsäure versetzt und dreimal mit seinem Volumen Äther ausgeschüttelt, wodurch man die Säuren bis auf einen kleinen Rest (ungefähr 1%) gewinnt. Vorteilhafter ist es, den Harn vor der Behandlung mit Äther zu konzentrieren, doch darf das nur geschehen, nachdem der Harn mit Säure versetzt worden ist, wenn man nicht Verluste erleiden will. Kirk säuert den Harn mit Salzsäure an und dampft ihn auf 0,1 Vol. ein, Embden[2]) versetzt den Harn mit $^1/_5$ seines Volumens verdünnter Schwefelsäure und verdampft ihn auf den sechsten Teil.

Von dem ätherischen Auszug wird der Äther abdestilliert, der Rückstand, welcher bei längerem Stehen krystallinisch erstarrt, wird in viel Wasser gelöst, die Flüssigkeit bis nahe zum Sieden erhitzt und reichlich mit einer konzentrierten Bleiessiglösung versetzt. Ein harziger oder amorpher flockiger Niederschlag, welcher dabei entsteht, wird sogleich durch ein Faltenfilter abfiltriert. Beim Erkalten des Filtrats scheidet sich das Bleisalz der Homogentisinsäure in grossen prismatischen Krystallen aus; nach 24 Stunden kann das Salz abfiltriert und mit wenig kaltem Wasser gewaschen werden.

Wolkow und Baumann lösen die aus der Tagesmenge Harn eines Erwachsenen (1,5—2 Liter) gewonnene rohe Säure in 250 ccm Wasser und versetzen die Lösung mit 30 ccm einer 20%igen Bleizuckerlösung. Dabei entgeht aber ein grosser Teil der Homogentisinsäure der Fällung (Huppert), und es ist daher, wie auch Ogden fand, besser, sich des basisch essigsauren Bleies zu bedienen. Umkrystallisieren lässt sich das Salz nicht, da es sich bei dem Versuch, es zu lösen, zersetzt. Reinigen lässt sich das Salz nur, wie schon Kirk angab und wie Embden[3]) empfiehlt, dadurch, dass man die Säure wiederholt mit Bleiacetat fällt. Man zerlegt das fein zerriebene Salz unter Wasser mit Schwefelwasserstoff, kocht aus dem Filtrat den Schwefelwasserstoff weg und fällt wie vorher mit Bleiessig. Entsteht hier zuerst auch ein amorpher Niederschlag, so ist dieser abzufiltrieren, bevor das Salz auszukrystallisieren beginnt.

Marshall hat den Harn mit dem halben Volumen dreibasisch essigsaurem Blei von 1,23—1,24 Dichte gefällt, den Niederschlag mit 45%igem Weingeist gewaschen, mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat nach dem Wegkochen des Schwefelwasserstoffs siedend mit kohlensaurem Blei gesättigt und die Lösung zur Krystallisation gebracht.

Zur Darstellung der Säure selbst wird das Bleisalz unter Wasser mit Schwefelwasserstoff behandelt, das Filtrat vom Schwefelwasser-

[1]) K. J. P. Orton and A. E. Garrod, Journ. of physiol. 27. 89. 1901.
[2]) Wolkow u. Baumann a. a. O. 241. — Embden a. a. O. 17. 190.
[3]) Huppert, Zeitschr. f. physiol. Ch. 23. 412. — Ogden, daselbst 20. 282. — Kirk, Brit. med. Journ. a. a. O. — Embden, Ztschr. f. physiol. Ch. 17. 188.

Digitized by Google

stoff durch Kochen befreit und auf dem Wasserbad eingedampft, bis es sich dunkler zu färben beginnt. Dann konzentriert man die Flüssigkeit vollends im Vakuum über Schwefelsäure. Die ausgeschiedenen grossen Krystalle können dann noch (nach Wolkow und Baumann am besten aus Wasser, aber unter grossem Verlust) umkrystallisiert werden.

2. Nach Garrod[1]) wird der Urin fast bis zum Sieden erhitzt und auf je 100 ccm 5 g festes neutrales Bleiacetat zugefügt. Von dem dichten Niederschlag, der sich bildet, wird sofort heiss abfiltriert und das klare gelbe Filtrat an einem kühlen Platz stehen gelassen. Nach einiger Zeit beginnt die Abscheidung von homogentisinsaurem Blei. Nach 24 Stunden werden die Krystalle abfiltriert, gewaschen und getrocknet. Zur Gewinnung der freien Säure suspendiert man das Bleisalz in Äther und leitet Schwefelwasserstoff durch. Man filtriert vom Schwefelblei, lässt den Äther verdunsten und erhält so farblose Krystalle vom Schmelzpunkt 146—147°.

C. Th. Mörner[2]) zersetzt das nach Garrod dargestellte Bleisalz bei Zimmerwärme unter fleissigem Umschütteln mit der berechneten Menge doppeltnormaler Schwefelsäure (175 ccm pro 100 g Bleisalz). Vom Bleisulfat wird abfiltriert, das Filtrat im Vakuum bei Zimmertemperatur bis zur reichlichen Krystallisation konzentriert, die Krystalle kräftig ausgepresst, in wenig Wasser gelöst und filtriert. Die Lösung wird nochmals im Vakuum konzentriert, bis nur wenig Mutterlauge zurückbleibt, die Krystalle abermals ausgepresst und bei Zimmertemperatur über Schwefelsäure getrocknet. Die Säure wird so fast farblos und frei von Laktonbeimischung erhalten.

3. Darstellung in Form des Esters: E. Meyer[3]) engt den mit Schwefelsäure angesäuerten Harn ein, schüttelt mit Äther, dem etwas Alkohol zugesetzt wird, drei- bis viermal aus, destilliert den Äther ab und versetzt den Rückstand mit Alkohol. Die alkoholische Lösung wird einige Stunden auf dem Wasserbade am Rückflusskühler gekocht, wobei Veresterung stattfindet. Der überschüssige Alkohol wird abdestilliert und der Rückstand erkalten gelassen. Er erstarrt zu einem dicken Sirup, der zunächst nicht krystallinisch erscheint. Beim Verrühren mit kaltem Wasser löst sich die schmierige Masse, während sich feine Kryställchen des schwer löslichen Esters ausscheiden. Die Krystalle werden abfiltriert, auf Ton abgepresst und, wenn nötig, unter Anwendung von Tierkohle umkrystallisiert.

---

[1]) A. E. Garrod, Journ. of physiol. **23**. 512. 1899.
[2]) C. Th. Mörner, Zeitschr. f. physiol. Chem. 78. 307. 1912.
[3]) E. Meyer, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **70**. 442. 1901. — L. Langstein u. E. Meyer, ebenda **78**. 174. 1903.

Digitized by Google

Zur vollständigen Veresterung kann auch der sirupöse Ätherrückstand mit 96%igem Alkohol aufgenommen und in die Lösung Salzsäuregas bis zur Sättigung eingeleitet werden. Man verdünnt dann mit viel Wasser, neutralisiert mit fester Soda und extrahiert rasch (um die Einwirkung des Alkalis zu verhindern) mehrmals mit Äther. Nach Abdestillieren des Äthers erstarrt der Rückstand krystallinisch. Der Krystallbrei wird sofort mit kaltem Wasser verrieben, wobei sich die braunen Schmieren lösen. Die weitere Verarbeitung erfolgt wie oben.

Als bei dem Versuch der Veresterung statt des Einleitens von Salzsäure der alkoholischen Lösung etwas konzentrierte flüssige Salzsäure zugegeben wurde, wurde Homogentisinsäurelakton erhalten, das die S. 857 erwähnte Farbenreaktion gab.

Bequemer erhält man den Ester nach Schumm[1]) auf folgende Weise: 200 ccm Urin werden mit 30 ccm 25%iger Salzsäure auf dem Wasserbade auf 25—30 ccm eingedampft, der Rückstand mit 90—100 ccm Alkohol in einen Erlenmeyer-Kolben übergeführt, mit 10 ccm rauchender Salzsäure versetzt und der Kolben, mit einem kugeligen Glas- oder Porzellanschälchen bedeckt, auf einem lebhaft kochenden Wasserbad eine Stunde erhitzt. Der Kolbeninhalt wird mit etwa 300 ccm Wasser verdünnt, mit Soda schwach alkalisiert und sogleich dreimal mit Portionen von je etwa 80 ccm Äther ausgeschüttelt. Der grösste Teil des Äthers wird abdestilliert, der Rückstand auf dem Wasserbad erhitzt, bis der Rest des Äthers und der Alkohol verjagt sind. Nach einiger Zeit verwandelt sich der sirupöse Rückstand in einen Krystallbrei, rascher, wenn man das Gefäss in Eiswasser kühlt. Die auf Ton abgepresste Krystallmasse wird unter Zusatz von etwas Tierkohle ein- bis zweimal aus wenig Wasser umkrystallisiert.

D. Nachweis. Homogentisinsäure enthaltender Harn ist frisch entleert entweder sehr blass oder eigentümlich braun, färbt sich an der Luft, namentlich bei alkalischer Reaktion, unter starker Sauerstoffabsorption tiefer braun und hinterlässt in der Wäsche dunkelrote oder braune Flecke. Er reduziert Fehlingsche Flüssigkeit und ammoniakalische Silberlösung, aber nicht Wismutoxyd oder Pikrinsäure bei Gegenwart von freiem Alkalihydrat. Durch den negativen Ausfall der letzten zwei Proben, sein starkes Dunkeln an der Luft, ferner durch seine Gärungsunfähigkeit und die optische Inaktivität unterscheidet er sich von einem zuckerhaltigen Harn.

Diese Reaktionen sind jedoch denen solcher Harne sehr ähnlich, welche Brenzkatechin, Hydrochinon oder Gallussäure enthalten. Entscheidend ist nur die Reindarstellung der Substanz. Die Homogen-

[1]) O. Schumm, Münch. med. Wochenschr. 1904. 1603.

Digitized by Google

tisinsäure lässt sich am einfachsten durch Bestimmung des Wassergehaltes ihres Bleisalzes erkennen; es gibt bei 100° 9,08% ab. Die Bestimmung des Schmelzpunktes ihres Bleisalzes (214—215°) ist, so einfach sie erscheint, doch darum schwierig, weil sich das Salz vor dem Schmelzen vollständig schwärzt und die Verflüssigung desselben dann schwer zu erkennen ist. Die Ermittelung des Bleigehalts (durch wiederholtes Abrauchen mit Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz) ist langwierig und für Ungeübte nicht leicht. Neben der Bestimmung des Wassergehalts des Bleisalzes kann man noch den Schmelzpunkt der freien Säure (145—147°) oder des Esters ermitteln. Auch die Gewinnung von Dibenzoylhomogentisinsäureamid (s. B. 10) kann zum Nachweis benutzt werden. Man hüte sich dabei aber vor Verwechslungen mit dem Tribenzamid (s. S. 692).

E. Bestimmung. Das von Baumann[1]) angegebene Verfahren beruht darauf, dass die Homogentisinsäure Silberoxyd in ammoniakalischer Lösung reduziert. Es wird das Reduktionsvermögen des Harns für 0,1 normale Silbernitratlösung ermittelt; 1 ccm derselben zeigt 4,124 mg Homogentisinsäure an.

10 ccm Harn werden in einem Kölbchen mit 10 ccm 3%igem Ammoniak und, um der Oxydation der Homogentisinsäure durch den Sauerstoff der Luft vorzubeugen, sofort mit einigen ccm 0,1 normaler Silbernitratlösung versetzt, umgeschüttelt und 5 Minuten stehen gelassen. Damit das suspendierte Silber nicht mit in das Filtrat übergeht, wird in der Flüssigkeit durch Zusatz von 5 Tropfen 10%iger Chlorcalciumlösung und 10 Tropfen Ammoncarbonat ein Niederschlag von Calciumcarbonat erzeugt. Gibt das Filtrat mit der Silberlösung noch einen starken Niederschlag, so setzt man zu einer neuen Probe Harn 2—3 mal so viel Silberlösung als zur ersten Probe. Hat man auf diese Weise die erforderliche Silbermenge annähernd ermittelt, so prüft man das Filtrat durch Ansäuern mit verdünnter Salzsäure auf überschüssiges Silber; richtig ist die Bestimmung dann, wenn dabei eine eben nur sichtbare Chlorsilbertrübung eintritt. Bei 4—6 maliger Wiederholung des Versuchs kann dieser Punkt scharf getroffen werden. Das Erkennen des Chlorsilbers wird nach Embden[2]) dadurch erleichtert, dass das tiefbraune alkalische Filtrat auf Zusatz von Salzsäure eine lichtrote Färbung annimmt, sobald man der Endreaktion nahe gekommen (keine oder nur wenig unoxydierte Säure noch vorhanden ist). Sind mehr als 8 ccm Silberlösung erforderlich, so müssen auf 10 ccm Harn 20 ccm des 3%igen Ammoniaks zugesetzt werden.

Das Ammoniak darf nach Baumann nicht stärker als 3%ig sein, weil wegen der Löslichkeit des Chlorsilbers im Chlorammon die Endreaktion unsicher wird; seine Konzentration darf aber auch nicht unter 2,5% sinken. Garrod und Hurtley dagegen verwenden 8%iges Ammoniak, weil sonst die Reduktion in 5 Minuten nicht vollständig ist, so dass die gefundenen Werte um ca. 11% zu niedrig ausfallen. Ein Überschuss von Salzsäure ist zu vermeiden. Am besten lässt man aus einer Bürette ein gleiches Volum einer Salzsäure zufliessen, die der verwendeten Ammoniaklösung äquivalent ist. Nach dem Ansäuern soll stets mit Wasser verdünnt werden, damit eine Chlorsilber-Trübung, die durch etwaigen Überschuss von Salzsäure in Lösung blieb, zum Vorschein kommt. — Für normalen Harn

[1]) E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. 16. 268. 1891.
[2]) H. Embden, Ztschr. f. physiol. Ch. 18. 309. 1893.

Digitized by Google

sind nach Mörner [1]) wegen der Fällbarkeit der Harnsäure durch ammoniakalische Silberlösung auf 10 ccm von der verbrauchten Silberlösung 0,3 ccm abzuziehen.

Bei Harnen, die reich an Harnsäure sind, empfiehlt Mittelbach [2]) folgende Modifikation des Baumannschen Verfahrens, weil die Mörnersche Korrektur für Harnsäure zu klein ausfallen kann:

Man fällt die Harnsäure nach Hopkins als Ammonsalz aus, indem man 15 g Chlorammon zu 50 ccm Harn in einem Messzylinder, der etwa 65 ccm fasst, zufügt, und das Salz durch gutes Umschütteln in Lösung bringt. Nach Absetzen des Schaumes wird bis zum nächsten Teilstrich aufgefüllt und 1 Stunde im verstopften Messgefäss (um Luftzutritt zu vermeiden) stehen gelassen. Das harnsaure Ammon wird abfiltriert und in einem aliquoten Teil des Filtrates die Homogentisinsäure mit Silberlösung titriert. Beim Zusatz der Silberlösung tritt sofort ein flockiger Niederschlag von Chlorsilber auf, der aber beim Umschwenken jedesmal vollständig verschwindet. Die Reduktion ist im mit Salmiak versetzten Harn erst nach 15 Minuten beendet.

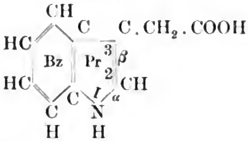
Anhang: Bestimmung der Gallussäure.

Die Bestimmung der Gallussäure nach C. Th. Mörner [3]) hat dieselbe Grundlage und wird in derselben Weise ausgeführt, wie die Bestimmung der Homogentisinsäure. In einzelnen Punkten ist Mörner jedoch von der für diese gegebenen Vorschrift abgewichen. Je nach dem Gehalt des Harns an Gallussäure sind 10—50 ccm in Arbeit zu nehmen. Nach dem Zusatz der Silberlösung blieben die Proben 10 Min. in dem verschlossenen Kölbchen stehen. Es wurde immer nur auf überschüssiges Silber geprüft. Nach einigen zur Orientierung über die erforderliche Silbermenge nötigen Proben wurde eine Reihe von Proben mit je 0,2 ccm Silberlösung mehr angestellt. Aus den zwei nebeneinander liegenden Proben, von welchen die eine die Endreaktion gab, die nächste wieder nicht, wurde das Mittel gezogen. 3 ccm Zehntelnormal-Silberlösung zeigen 10 mg Gallussäure an.

Heterocyklische Säuren.

I. Indolessigsäure.

$C_{10}H_9NO_2$.



Syn. Indol-β-Essigsäure, Indol-Pr 3-Essigsäure.

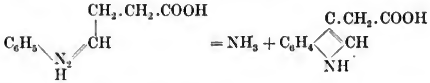
[1]) A. E. Garrod u. W. H. Hurtley, Journ. of physiol. **33**. 206. 1907. — C. Th. Mörner, ebenda **16**. 257. 1891.

[2]) Mittelbach, Deutsch. Arch. f. klin. Med **71**. 52. 1901.

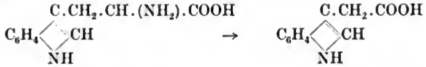
[3]) C. Th. Mörner, Ztschr. f. physiol. Ch. **16**. 257. 1891.

Digitized by Google

Die Säure ist von E. und H. Salkowski bei ihren Studien über Eiweissfäulnis entdeckt und unter dem Namen Skatolcarbonsäure beschrieben worden, weil sie leicht unter Kohlensäure-Abgabe Skatol liefert. Die Konstitution ist durch Ellinger auf dem Wege der Synthese festgestellt worden: Sie entsteht beim Schmelzen des Phenylhydrazons der β-Aldehydopropionsäure mit Chlorzink.



Nach den Beobachtungen von Hopkins und Cole [1]) entsteht Indolessigsäure bei der Zersetzung von Tryptophan durch Reinkulturen von Bacterium coli bei Luftzutritt.



Tryptophan Indolessigsäure.

A. Vorkommen. Bei der Darstellung der aromatischen Oxysäuren des Harns (s. S. 843) wurden von Baumann neben diesen in Wasser schwer lösliche stickstoffhaltige Säuren erhalten, welche sich in öligen Tropfen abschieden, und mit rauchender Salpetersäure, ähnlich dem Indol, einen schön roten Niederschlag gaben, der mit überschüssiger Salpetersäure verharzte. Die verdünnte wässerige Lösung derselben lieferte bei der Fäulnis mit Kloakenschlamm nicht unerhebliche Mengen Skatol, aber kein Indol. Bei anhaltendem Kochen derselben oder des Harns direkt mit starker Salzsäure wurden harzige Produkte erhalten, welche kein Skatol mehr gaben. — E. Salkowski gewann aus menschlichem Harn eine Säure in Lösung, welche nach den Reaktionen Indolessigsäure sein konnte. — In Substanz aus dem normalen Harn dargestellt ist sie mit Bestimmtheit noch nicht; sie dürfte sich nur in sehr kleiner Menge im Menschenharn, etwas reichlicher im Pferdeharn (Jaffe)[2]) vorfinden. Sie entsteht bei der Fäulnis der Eiweisssubstanzen im Darm und geht mindestens zum Teil unverändert in den Harn über.

Die Reindarstellung geringer Mengen der Säure aus einem menschlichen Harn ist zuerst Herter[3]) bei einem 7jährigen Kinde mit Verdauungsstörungen gelungen, das eine abnorme Darmbakterienflora zeigte. Während die Erreger der Buttersäure-Gärung fast vollkommen fehlten, überwog der Bac. bifidus communis (Tissier), der auch in Traubenzucker-Bouillonkultur Indolessigsäure bildet. Im Darminhalt des Pat. konnte Herter ebenfalls Indolessigsäure nachweisen.

Nach Herter ist die Indolessigsäure die Substanz, welche bei gleichzeitiger Anwesenheit von Nitriten auf Zusatz von konzentrierter

[1]) E. u. H. Salkowski, Ber. d. chem. Gesellsch. **13**. 191 u. 2217. 1881; Ztschr. f. physiol. Ch. **9**. 13. 1885. — A. Ellinger, Ber. d. chem. Gesellsch. **37**. 1801. 1904. — F. G. Hopkins and S. W. Cole, Journ. of physiol. **29**. 451. 1903.

[2]) M. Jaffe, Festschrift für O. Schmiedeberg S. 302.

[3]) C. A. Herter, Journ. of biol. chem. **4**. 238 u. 253. 1908.

Digitized by Google

Salzsäure die Urorosein-Reaktion von Nencki und Sieber (s. Urorosein) gibt.

B. Eigenschaften. 1. Die aus gefaultem Eiweiss dargestellte Säure krystallisiert aus heissem Wasser in kleinen weissen Körnchen und Warzen, aus Benzol in kleinen seidenglänzenden Plättchen. Sie schmilzt bei 164° (nach Hopkins und Cole bei 165°) und zersetzt sich wenig über ihrem Schmelzpunkt in Kohlensäure und ein schnell krystallinisch erstarrendes Sublimat von Skatol. In kaltem Wasser löst sie sich schwer, leichter in heissem; in Äther, in Alkohol und in heissem Benzol löst sie sich gleichfalls. Mit Wasserdämpfen ist sie nicht flüchtig. Sie ist geruchlos.

2. In unreiner wässeriger Lösung zersetzt sie sich beim Eindampfen unter Entwickelung des Geruchs nach Skatol und Bildung eines roten oder violetten Stoffs. Lässt man die wässerige Lösung längere Zeit stehen, so zersetzt sich die Säure teilweise unter Ausscheidung eines pulverigen bräunlichen Niederschlags. Gegen Fäulnisfermente ist sie widerstandsfähig.

3. Ihre Alkalisalze sind leicht löslich und reagieren neutral; in wässeriger Lösung hält sich das Natronsalz anscheinend unverändert. In einer Alkalisalzlösung von 0,1% gibt Bleizucker langsam einen krystallinischen Niederschlag, Kupferacetat, Quecksilberchlorid, Eisenchlorid, Silbernitrat nichts oder nur eine leichte Trübung; die mit Quecksilberchlorid versetzte Lösung gibt bei vorsichtigem Hinzufügen von wenig Natronlauge einen grauweissen Niederschlag. Mit Denigès' Reagens (100 g Mercurisulfat in 1 Liter 5%iger Schwefelsäure) gibt die Säure noch in sehr verdünnten Lösungen einen gelben, körnigen Niederschlag (Hopkins und Cole). Aus konzentrierterer Lösung fällt salpetersaures Silber ein schwer lösliches Silbersalz.

4. Erwärmt man die verdünnte Lösung nach Zusatz von wenig Eisenchlorid, so erscheint sie im durchfallenden Licht blaurot und trüb, im auffallenden weisslich grau; säuert man darauf vorsichtig an, so entsteht ein grauvioletter Niederschlag, der sich nach dem Auswaschen in Alkohol leicht mit blauroter Farbe löst. — Säuert man eine 1%ige Lösung der Säure oder eines ihrer Salze mit Salzsäure an, fügt sehr verdünnte Eisenchloridlösung hinzu und erhitzt zum Sieden, so färbt sich die Flüssigkeit kirschrot. Verdünntere Lösungen (bis 1:100000) werden nach E. Salkowski[1]) nur violett. Der Farbstoff löst sich leicht in Amylalkohol, dagegen nicht in Äther, in Benzol und in Chloroform. Essigäther nimmt aus einer konzentrierten Lösung roten Farbstoff auf, beim Schütteln mit einer verdünnten Lösung färbt sich der Essigäther nur gelb, und die rückständige wässerige Lösung

[1]) E. Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. 9. 23. 1885.

Digitized by Google

besitzt danach eine noch schönere Färbung; allen Farbstoff nimmt der Essigäther niemals auf.

5. Versetzt man nach E. Salkowski eine 1%ige Lösung der Säure mit einigen Tropfen Salpetersäure von 1,2 Dichte und wenig Tropfen einer 2%igen Kaliumnitritlösung, so färbt sie sich schnell kirschrot und scheidet einen roten Farbstoff ab, welcher sich mit Essigäther oder Amylalkohol leicht ausschütteln lässt, der dagegen in Äther, in Benzol und in Chloroform unlöslich ist. Die Lösung des Farbstoffs in Essigäther zeigt einen Absorptionsstreifen in Grün. Natronlauge entzieht dem Essigäther den Farbstoff und färbt sich dabei gelb; beim Ansäuern geht der Farbstoff wieder mit roter Farbe in den Essigäther über. Die Reaktion tritt noch ein bei einer Verdünnung von 1:10000. Ein Überschuss von salpetriger Säure zerstört den Farbstoff. Der Farbstoff unterscheidet sich vom Nitrosoindol dadurch, dass dieses nach der Reduktion mit verdünnter Natronlauge und Zinkstaub an der Luft blau, der fragliche Farbstoff aber dauernd entfärbt wird.

6. Versetzt man eine 1%ige Lösung der Säure oder eines ihrer Salze mit dem gleichen Volumen Salzsäure von 1,2 Dichte und mit einigen Tropfen schwacher Chlorkalklösung (Jaffesche Indicanprobe), so färbt sie sich allmählich purpurrot und setzt bei längerem Stehen einen purpurroten, in Alkohol leicht löslichen Niederschlag ab. Auch bei zehnfacher Verdünnung dieser Lösung tritt die Reaktion noch ein. Gegen Amylalkohol, Äther, Benzol und Chloroform verhält sich dieser Farbstoff wie der durch salpetrige Säure erzeugte, aber Essigäther nimmt ihn nur schwierig oder fast gar nicht auf (E. Salkowski).

7. Indolessigsäure gibt wie die meisten Indolderivate die Hopkinssche Glyoxylsäure-Reaktion. Versetzt man eine wässerige oder alkoholische nicht zu verdünnte Lösung der Säure mit Glyoxylsäurelösung, die durch Reduktion von Oxalsäurelösung mit Natriumamalgam leicht zu erhalten ist, und unterschichtet mit konzentrierter Schwefelsäure, so entsteht an der Grenzschicht eine violette Färbung, die indessen bald verblasst. Auch in nicht ganz reinem Eisessig, der oft etwas Glyoxylsäure enthält, gelöst, gibt die Säure mit konzentrierter Schwefelsäure Violettfärbung mit grüner Fluoreszenz (Adamkiewiczsche Reaktion, E. Salkowski) [1].

8. Mit einer ca. 2%igen alkoholischen Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd (Ehrlichs Aldehyd-Reagens) und einigen Tropfen Salzsäure erwärmt, gibt die Säure eine rotviolette Färbung (Herter).

[1] F. G. Hopkins u. S. W. Cole, Proc. Roy. Soc. 68. 21. 1901. — E. Salkowski, Ztschr. f. physiol. Ch. 12. 215 ff. 1888.

Digitized by Google

Die Reaktionen 4—8 treten auch bei Gegenwart der aromatischen Oxysäuren auf.

9. Die Säure gibt nach E. Salkowski die Millonsche Reaktion je nach der Art, wie diese angestellt wird, entweder nicht, oder die Flüssigkeit färbt sich schmutzig rotbraun; die aromatischen Oxysäuren geben die Reaktion.

10. Beim Erwärmen der Säure mit konzentrierter Salpetersäure färbt sich die Flüssigkeit stark gelb (E. Salkowski).

C. Nachweis. Der Harn gibt selbst bei einem sehr geringen Gehalt an Indolessigsäure (der 48stündige Harn eines Kaninchens nach Verabreichung von 10 mg der Säure) nach E. Salkowski noch direkt die Reaktion mit Eisenchlorid, mit salpetriger Säure und mit unterchloriger Säure (B. 4—6). Da sich aber auch der nach Einverleibung von Skatol entleerte Harn wenigstens gegen salpetrige und gegen unterchlorige Säure ganz ähnlich verhält und bei normalem Harn die Proben bei der direkten Untersuchung versagen, so ist die Säure erst einigermassen rein darzustellen.

Man verfährt dazu nach E. Salkowski in folgender Weise. Es werden mehrere Liter Harn eingedampft, der Rückstand mit absolutem Alkohol ausgezogen, die Lösung verdunstet und der Rückstand nach starkem Ansäuern mit Schwefelsäure und Äther ausgeschüttelt. Der ätherischen Lösung wird die Säure durch Schütteln mit Natriumcarbonatlösung entzogen, die alkalische Lösung eingedampft, der Rückstand wiederholt in Alkohol gelöst und verdunstet, die Lösung zuletzt mit Äther gefällt. Man verdunstet alsdann, zieht den Rückstand nach Zusatz von Salzsäure mit Äther aus, verdunstet den Äther, löst den Rückstand in heissem Wasser, verdunstet das Filtrat und bringt den Rückstand nochmals in wässerige Lösung. Mit dieser sind dann die Reaktionen B. 4—6 anzustellen. Bei Harnen, welche reich an Indolessigsäure sind, krystallisiert aus der letzten wässerigen Lösung die Säure aus; sie kann durch Umkrystallisieren aus Benzol noch weiter gereinigt werden.

Die Indolessigsäure kann auch in den nach S. 843 dargestellten aromatischen Oxysäuren mittelst der Reaktionen B. 4—6 aufgesucht werden. Auch kann man sie in dem Gemenge nach E. Salkowski so nachweisen, dass man dasselbe in einem Röhrchen über den Schmelzpunkt der Indolessigsäure erhitzt, das Röhrchen zerschneidet, mit etwas verdünnter Natronlauge destilliert und im Destillat das Skatol aufsucht.

Herter scheint in dem oben erwähnten Falle, soweit aus seinen kurzen Angaben zu ersehen ist, aus dem Ätherextrakt des Urins die Säure sofort krystallinisch erhalten zu haben. Nach Umkrystallisieren der Krystalle aus Benzol hatten sie den Schmelzpunkt 160—162°, gaben die charakteristische Farbreaktion und spalteten beim Erhitzen Skatol ab.

II. Unbekannte Substanzen, die bei der Destillation des Harns Indol abspalten.

Jaffe machte zuerst darauf aufmerksam, dass beim Destillieren des normalen Harns von Menschen, Hunden, Kaninchen, Pferden und Hühnern Indol in das Destillat übergeht. Die Ausbeute ist am grössten beim Pferdeharn; aus 7 Liter wurde durch tagelang fortgesetzte Destillation unter Ersatz des verdampfenden Wassers 0,16 g Indol rein gewonnen, obwohl die Destillation nicht bis zur Erschöpfung durch-

Digitized by Google

geführt war und die Reinigung Verluste bedingte. Porcher[1]) bestätigte die Angabe von Jaffe.

Wahrscheinlich stammt das Indol des Harndestillats aus mehreren Quellen: Durch Ausschütteln des frischen, mit Salz- oder Phosphorsäure angesäuerten Harns mit Äther und Verdampfen des Äthers erhielt Jaffe einen Rückstand, der keine Indolreaktionen gab, dessen wässerige Lösung aber (vorher durch Behandlung mit Soda und Äther in der üblichen Weise von Phenolen befreit) bei der Destillation Indol abspaltete. Jaffe vermutete, dass die ätherlösliche Säure β-Indolcarbonsäure sei, die Identifikation gelang aber nicht. Porcher gibt an, Indolcarbonsäure gefunden zu haben, aber ohne Einzelheiten der Isolierung zu beschreiben.

Nach Jaffe geht die Hauptmenge der indolliefernden Substanzen des Pferdeharns bei Anwendung der Bleifällungsmethode in den Bleiessigniederschlag; mit Bleiacetat fällt nichts davon, mit Bleiessig und Ammoniak nur wenig.

Zur Isolierung aus dem Bleiessigniederschlag verfuhr Jaffe folgendermassen: Der in Wasser suspendierte Niederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff zersetzt und das Filtrat vom Schwefelblei mit Äther gründlich ausgeschüttelt, der nur wenig indolgebende Substanz aufnahm. Die saure, mit Äther erschöpfte Flüssigkeit wurde mit Alkali nahezu neutralisiert, auf einen Gehalt von 5% Schwefelsäure gebracht und mit einer 10%igen Lösung von Mercurisulfat in 5%iger Schwefelsäure gefällt. Der Quecksilberniederschlag wurde in der Kälte mit Schwefelwasserstoff zerlegt, das Filtrat vom Schwefelquecksilber 12 mal mit Äther ausgeschüttelt. Der mit Wasser aufgenommene Ätherrückstand wurde mit Kupferacetat gefällt, und nach dem Abfiltrieren des Niederschlages mit Ammoniak unter Vermeidung eines Überschusses gefällt. Nach abermaliger Filtration und Entfernung des Kupfers mit Schwefelwasserstoff wurde eine farblose Lösung erhalten, die noch Spuren Indolessigsäure und wahrscheinlich das Chromogen des Skatolrots (s. dieses) enthielt. Aus der Lösung wurde durch Zusatz von Salzsäure und Eisenchlorid ein roter Farbstoff erhalten, der mit Amylalkohol ausgeschüttelt und der amylalkoholischen Lösung mit verdünnter Sodalösung entzogen wurde. Die braungelbe, alkalische, filtrierte Lösung lieferte bei der Destillation Indol.

Die Hauptmenge der indolliefernden Substanzen befand sich in dem in Äther unlöslichen Teil des zersetzten Quecksilberniederschlages.

[1]) M. Jaffe, Festschrift f. O. Schmiedeberg S. 299. Leipzig 1908. Suppl. d. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. — Ch. Porcher, Compt. rend. Acad. d. scienc. 148. 1210. 1909.

Digitized by Google

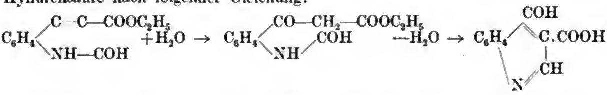
Die mit Äther ausgeschüttelte saure Lösung wurde mit Baryt von Schwefelsäure befreit, wie der Ätherextrakt sukzessive mit Kupferacetat und Ammoniak gefällt und vom Kupfer befreit. Die fast farblose Flüssigkeit war frei von Indolessigsäure und dem Chromogen des Skatolrots. Eine in dieser Lösung enthaltene unbekannte Substanz und das Chromogen des Skatolrots dürften also — vielleicht neben Indolcarbonsäure — die Quellen des bei der Harndestillation auftretenden Indols sein, während Indolessigsäure, sowie die Indoxylverbindungen nach Jaffes Versuchen bei der Destillation kein Indol liefern.

III. Kynurensäure.

$C_{10}H_7NO_3$.

γ-Oxy-Chinolin-β-carbonsäure.

Die Konstitution der Kynurensäure, die von Liebig im Hundeharn im Jahre 1853 entdeckt wurde, ergibt sich aus folgenden Daten: Schmiedeberg und Schultzen beobachteten die Zersetzung in Kynurin und Kohlensäure (B. 4). Kretschy erkannte im Kynurin ein Oxychinolin (B. 6) und stellte durch Oxydation der Kynurensäure zur Kynursäure $C_6H_4\begin{cases}COOH\\NH\end{cases}\!\!\!\!CO.COOH$ fest, dass sowohl die Hydroxylgruppe wie die Carboxylgruppe sich im Pyridinkern des Chinolins befinden (B. 8). Wenzel identifizierte das Kynurin mit dem synthetisch dargestellten γ-Oxychinolin und Camps[1]) bestimmte schliesslich die Stellung der Carboxylgruppe durch die Synthese der Kynurensäure. Durch Erhitzen der alkoholischen Lösung von o-Formylamido-phenylpropiolester mit Natronlauge entsteht Kynurensäure nach folgender Gleichung:



Formylamidophenyl-propiolsäureester — Formylamidobenzoyl-essigsäureester — Kynurensäure

A. Vorkommen. Die Kynurensäure ist bisher normalerweise nur im Harn des Hundes (Liebig) und des kalifornischen Steppenwolfes [Canis ochropus, Eschholz] (Swain)[2]) gefunden. Bei der Katze und selbst bei den nächsten Verwandten des Hundes, dem Fuchs und Wolf, fehlt sie. Ein Hund scheidet im Tag einige Milligramme bis mehrere Gramm, je nach der Nahrung, aus. Mitunter findet man Hunde, bei denen die Kynurensäure ganz fehlt.

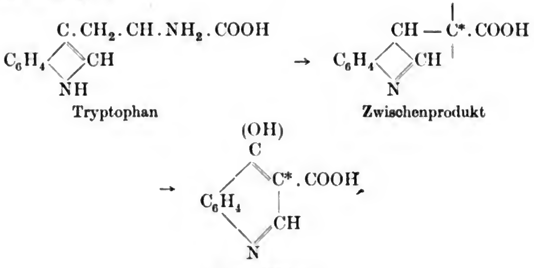
[1]) J. Liebig, Ann. d. Ch. 86. 125, 1853. — R. Camps, Ztschr. f. physiol. Ch. 31. 390. 1901.

[2]) R. E. Swain, Amer. journ. of physiol. 9. 391. 1903.

Digitized by Google

Die Muttersubstanz der Kynurensäure ist nach Ellinger die Tryptophankomponente der Eiweisskörper. Gibt man einem Hunde, der bei Brot- und Milchfütterung nur wenig Kynurensäure ausscheidet, Tryptophan per os oder subkutan, so scheidet er 20—26% der Menge Kynurensäure aus, die theoretisch aus dem zugeführten Tryptophan entstehen kann. Hunde mit Eckscher Fistel reagieren ebenfalls mit vermehrter Kynurensäure-Ausscheidung (Abderhalden, London und Pincussohn). Auch das Kaninchen wandelt Tryptophan in Kynurensäure um (Ellinger, Baumgarten). Beim Menschen ist es bisher nicht gelungen, künstlich eine Kynurensäure-Ausscheidung hervorzurufen, vielleicht weil die Tryptophandosis (3 g) zu gering war. Nach Hauser kann ein Mensch 4 g Kynurensäure verzehren, ohne dass im Harn etwas davon unverändert ausgeschieden wird. Beim Hunde ist das Vermögen, aufgenommene Kynurensäure zu zerstören, geringer (Hauser, Solomin)[1]).

Den Übergang des Tryptophans in Kynurensäure, der noch nicht in allen Einzelheiten aufgeklärt ist, wird man sich nach Ellinger[2]) so vorstellen müssen, dass die dreigliederige Seitenkette des Indolringes zu einer zweigliederigen oxydiert wird und das mit dem Carboxyl verbundene Sauerstoffatom der Seitenkette bei der Schliessung des Chinolinringes beteiligt ist:



Kynurensäure.

Die Resultate der zahlreichen Versuche über den Einfluss verschiedener Ernährung auf die Kynurensäure-Ausscheidung, die vor der Aufklärung der Entstehung aus dem Tryptophan angestellt worden sind

[1]) A. Ellinger, Ztschr. f. physiol. Ch. **43**. 325. 1904. — E. Abderhalden, E. S. London u. L. Pincussohn, ebenda **62**. 139. 1909. — A. Baumgarten, Verh. d. Gesellsch. deutsch. Naturf. u. Ärzte 1905. II. 2. 413 zit. n. Chem. Zentralbl. 1906 II. 1449. — A. Hauser, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **36**. 1. 1895. — P. Solomin, Ztschr. f. physiol. Ch. **23**. 497. 1897.

[2]) A. Ellinger, Ber. d. chem. Gesellsch. **39**. 2517. 1906.

(Lit. bei Josephsohn, Mendel und Jackson, Mendel und Schneider), finden in diesem Zusammenhange ihre Erklärung; Ernährung mit Fleisch — auch mit ausgelaugtem — vermehrt, Milch- und namentlich Brotfütterung vermindert die Kynurensäuremenge (Naunyn und Riess, Aug. Schmidt, Rubner, Brysch); nach Leimfütterung verschwindet die Säure. Exstirpation des Pankreas und Unterbindung der Pankreasgänge führen zur Verminderung (Glaessner und Langstein)[1]), Vergiftungen durch Phloridzin, Phosphor und Borax, die mit erhöhtem Eiweisszerfall einhergehen, zur Vermehrung (Mendel und Jackson). Fäulnisvorgänge im Darm sind ohne unmittelbaren Einfluss (Baumann, Haagen, Capaldi).

B. Eigenschaften. 1. Die mit 1 Mol. Wasser krystallisierende Säure bildet sehr feine, farblose, in trockenem Zustand seidenglänzende Nadeln. Beim Aufbewahren unter schwach saurem Wasser verwandeln sich diese in lange, vierseitige, glasglänzende Prismen. In kaltem Wasser ist sie so gut wie nicht, in heissem zu 0,1% löslich. Sie löst sich in 500 Teilen kaltem Alkohol (Schneider); heisser Alkohol löst sie in nicht unbeträchtlicher Menge und lässt sie beim Erkalten teilweise wieder ausfallen; auch in Äther ist sie etwas löslich. Die Krystalle geben ihr Krystallwasser erst bei 150° vollständig ab (Schmiedeberg und Schultzen, Kretschy)[2]).

2. Die Kynurensäure löst sich leicht in Alkalihydraten und kohlensauren Alkalien, indem sie mit den Basen Salze bildet; ihre Verbindungen mit den übrigen Basen sind schwer löslich oder unlöslich. Von den Salzen sind das Kali-, das Kalk-, das Baryt- und Kupfersalz krystallisiert erhalten worden (Liebig[3]), Kretschy); die beiden erstgenannten krystallisieren schwer, leicht dagegen das charakteristische Barytsalz; das Ammonsalz verliert beim Verdunsten seiner Lösung das Ammoniak.

a) Das Barytsalz $(C_{10}H_6NO_3)_2Ba + 3\,H_2O$ (Schmiedeberg u. Schultzen, $+ 4\frac{1}{2}\,H_2O$ Kretschy), wird erhalten, wenn man Kynurensäure in heissem Barytwasser auflöst, die Lösung mit Kohlensäure neutralisiert, die Flüssigkeit samt Niederschlag zum Sieden erhitzt, heiss filtriert und das Filtrat zur Krystallisation verdunstet; ebenso erhält man das Salz durch Kochen der Säure mit kohlensaurem Baryt und Wasser. Es bildet dreieckige, übereinander geschichtete, glänzende Plättchen oder Nadeln, reagiert neutral und verliert sein Krystallwasser erst bei 150—160° völlig. Das Salz löst sich schwer in kaltem, leichter in heissem Wasser,

---

[1]) A. Josephsohn, Beiträge zur Kenntnis der Kynurensäure-Ausscheidung beim Hunde. Inaug.-Diss. Königsberg 1898. — L. B. Mendel and H. C. Jackson, Amer. Journ. of physiol. **2**. 1. 1898. — L. B. Mendel und E. C. Schneider, ebenda **5**. 427. 1901. — J. W. Brysch, Untersuchungen über das Vorkommen der Kynurensäure im Katzenharn. Inaug.-Diss. Bern 1907 zit. n. Jahresb. f. Tierch. **37**. 350. — K. Glaessner u. L. Langstein, Hofmeisters Beiträge **1**. 34. 1902.

[2]) O. Schmiedeberg u. O. Schultzen, Ann. d. Chem. u. Pharm. **164**. 155. — M. Kretschy, Monatshefte f. Ch. **2**. 57. 1881.

[3]) Liebig, a. a. O. u. **108**. 354.

Digitized by Google

noch leichter in Barytwasser; beim Neutralisieren dieser alkalischen Lösung fällt kynurensaurer Baryt aus. Durch Säuren wird das Salz zersetzt, aber nach Meissner, Liebig[1]), sowie Schmiedeberg und Schultzen nicht durch Kohlensäure.

b) Eine ammoniakalische Lösung der Kynurensäure gibt mit salpetersaurem Silber einen dicken weissen, in der Wärme nicht löslichen Niederschlag (Liebig), in welchem bald Reduktion eintritt, wenn die Säure nicht rein ist (Schneider, Kretschy); der Niederschlag löst sich leicht in überschüssigem Ammoniak (Huppert). — Kynurensaurer Baryt gibt mit essigsaurem Blei sowie mit Chlorzink weisse, im Überschuss des Reagens lösliche Niederschläge, mit essigsaurem Kupfer einen gelbgrünen, krystallinischen, mit salpetersaurem Quecksilberoxyd einen weissen, mit Eisenchlorid einen ziegelroten, mit Platinchlorid einen hellgelben Niederschlag (F. Hofmeister, Kretschy).

3. Die Kynurensäure verbindet sich auch mit Säuren. In salpetersäure- und in salzsäurehaltigem Wasser löst sie sich so gut wie nicht, dagegen löst sie sich leicht in den Mineralsäuren bei nur mässiger Verdünnung derselben, ebenso ohne Veränderung in konzentrierten Mineralsäuren, wenn die Anwendung von Wärme vermieden wird; Wasser fällt die Kynurensäure aus ihren Lösungen in den Säuren wieder aus. Von den Verbindungen der Kynurensäure mit Säuren ist das salzsaure Salz, $C_{10}H_7NO_3$, HCl, von Brieger dargestellt worden; auch ein Platinchloridsalz scheint zu bestehen (Kretschy). Von Bedeutung ist die Verbindung der Kynurensäure mit der Phosphorwolframsäure wegen ihrer Schwerlöslichkeit.

Nach F. Hofmeister[2]) gibt eine Lösung von Kynurensäure bei Gegenwart einer freien Mineralsäure, aber nicht bei Gegenwart von Essigsäure, mit Phosphorwolframsäure einen Niederschlag von rhombischen Täfelchen. Der Niederschlag bildet sich sofort noch bei einer Verdünnung der Lösung der Kynurensäure von 1 : 4000; bei einer Verdünnung von 1 : 12000 entsteht zunächst schwache Trübung, und nach 24 Stunden haben sich Kryställchen abgesetzt; bei einer Verdünnung von 1 : 16000 bleibt die Flüssigkeit anfangs klar, scheidet aber binnen 24 Stunden auch noch Krystalle ab.

4. Beim Erhitzen im Glasrohr schmilzt die Kynurensäure zu einer braunen Flüssigkeit, welche endlich unter Zurücklassung einer Spur Kohle vollständig sublimiert; das Sublimat ist weiss, seidenglänzend, krystallinisch und löst sich leicht in Alkohol (Liebig). Nach Schmiedeberg und Schultzen schmilzt die Kynurensäure bei 265° und zerfällt dabei (bei 253—258° nach Kretschy) sogleich in Kohlensäure und eine organische Basis, das Kynurin; auch das Kalksalz liefert bei schwachem Glühen Kynurin (Kretschy).

$$\underset{\text{Kynurensäure}}{C_{10}H_7NO_3} = \underset{\text{Kynurin.}}{C_9H_7NO} + CO_2$$

Nach der von Wenzel[3]) ausgeführten Synthese ist das Kynurin γ-Oxychinolin.

[1]) G. Meissner u. Shepard, Untersuchungen über das Entstehen der Hippursäure etc. Hannover 1866. 203. — Liebig, a. a. O. 140. 143.
[2]) F. Hofmeister, Ztschr. f. physiol. Ch. 5. 70. 1881.
[3]) F. Wenzel, Monatshefte f. Ch. 15. 469. 1894.

Digitized by Google

Der Schmelzrückstand löst sich bis auf einen kleinen Rest Kohle leicht in Wasser, und aus der mit Tierkohle entfärbten Lösung krystallisiert das Kynurin in glashellen, zu Drusen vereinigten Prismen. Die Krystalle sind wasserfrei, luftbeständig, von neutraler oder schwach alkalischer Reaktion, lösen sich wenig in kaltem Wasser, leichter in kaltem Alkohol, schwerer in absolutem Äther, Petroleumäther, Benzol und binden bei längerem Stehen an der Luft etwas Kohlensäure. Das Kynurin schmeckt rein bitter, wie Chinin, nur lange nicht so intensiv. Bei 201° schmilzt es zu einer farblosen Flüssigkeit und erstarrt beim Abkühlen plötzlich bei 159—160°. Es hat nur geringe Neigung zu sublimieren. — Wenn Kynurin aus seiner wässerigen Lösung plötzlich auskrystallisiert, so tritt es in Nadeldrusen mit 3 Mol. Krystallwasser auf; diese Krystalle verwittern schnell und schmelzen in ihrem Krystallwasser bei ungefähr 52°. — Eisenchlorid färbt die Lösung des Kynurins schwach carminrot, Eisenvitriol schwach gelblich, Millonsches Reagens allmählich intensiv gelbgrün. Das Kynurin wird gefällt durch Pikrinsäure, salpetersaures Silber, Platinchlorid und Goldchlorid; die Chloridniederschläge sind in Alkohol erheblich löslich. Mit Säuren gibt das Kynurin stark sauer reagierende, gut krystallisierende Verbindungen. Salzsäure bildet mit ihm ein normales Salz $C_9H_7NO, HCl + H_2O$ (Schmiedeberg und Schultzen) und ein basisches $(C_9H_7NO)_2, HCl + 2 H_2O$ (Kretschy); Skraup erhielt beide; beide krystallisierten in Nadeln. Das Platinsalz, $(C_9H_7NO)_2, H_2PtCl_6 + 2 H_2O$, bildet einen schwefelgelben, krystallinischen Niederschlag oder orangegelbe Nadeln. Das Goldchloridsalz besteht aus grünlichgelben Nadeln. — Mit Benzoylchlorid trocken am Rückflusskühler auf 200° erhitzt, geht Kynurin in γ-Chlorchinolin über (Ellinger u. Riesser[1])).

5. Anhaltendes Kochen der Kynurensäure mit Salpetersäure verändert sie nicht. Ihre Lösung in konzentrierter Schwefelsäure bräunt sich beim Erwärmen schwach, und scheidet auf Zusatz von Wasser einen zitronengelben, amorphen Niederschlag ab (Liebig). — Konzentrierte Jodwasserstoffsäure verwandelt die Säure bei 180° im zugeschmolzenen Rohr in kompakte Prismen, ohne sie sonst zu verändern (Schmiedeberg und Schultzen). — Wird die Kynurensäure mit konzentrierter Salzsäure auf 240° erhitzt, so gibt sie nach Kretschy[2]) unter Kohlensäureentwickelung salzsaures Kynurin.

6. Wird Kynurensäure mit Zinkstaub im Wasserstoffstrom erhitzt, so liefert sie nach Kretschy[3]) unter Kohlensäureentwickelung fast ganz reines Chinolin:

$$\underset{\text{Kynurin}}{C_9H_7NO_2} + H_2 = \underset{\text{Chinolin.}}{C_9H_7N} + H_2O$$

7. Beim Schmelzen mit Kalihydrat verbrannte die Kynurensäure nach Kretschy grösstenteils ohne Ammoniakentwickelung und ohne dass ein Zwischenprodukt gefasst werden konnte.

8. In alkalischer Lösung werden die Kynurensäure und das Kynurin zu Kynursäure (Carbostyrilsäure, Ortho-Oxamidobenzoesäure,

[1]) Zd. H. Skraup, Monatshefte f. Ch. 9. 818. 1888; 10. 728. 1889. — A. Ellinger u. O. Riesser, Ber. d. chem. Gesellsch. 42. 3336. 1909.
[2]) M. Kretschy, Ber. d. ch. Gesellsch. 12. 1674. 1879; Monatshefte f. Ch. 2. 84. 1881.
[3]) M. Kretschy, Ber. d. ch. Gesellsch. 12. 1674; Monatshefte f. Ch. 2. 79.

Digitized by Google

Oxalyl-Orthoamidobenzoesäure COOH . CO . NH . C_6H_4 . COOH) oxydiert (Kretschy)[1]).

9. Erhitzt man Kynurensäure mit Salzsäure und chlorsaurem Kali, so entsteht nach Jaffe[2]) neben anderen Produkten Tetrachloroxykynurin: $C_9H_3Cl_4NO_2$. Dasselbe färbt sich in dünner Schicht, mit Ammoniak übergossen, erst mahagonibraun, allmählich aber dunkelgrün, später fast schwarzblau.

10. Lösungen von Kynurensäure geben auf Zusatz von Bromwasser einen starken, zitronengelben Niederschlag, der bald krystallinisch wird (Baumann). Der Niederschlag zersetzt sich nach L. Brieger[3]) leicht unter Abgabe von Kohlensäure, die aber nur in der Wärme vollständig ist, und verwandelt sich in Tetrabrom-Kynurin: $C_9H_3Br_4NO$.

Das Tetrabrom-Kynurin enthält ein Atom Brom locker gebunden; dasselbe wird zwar nicht durch Schütteln der Verbindung mit kaltem Wasser frei, wohl aber unter der Einwirkung von Alkohol oder von Alkalihydraten sowie beim Erwärmen der Verbindung für sich; der in Wasser zerteilte Niederschlag gibt mit Jodkaliumkleister sofort blaue Färbung. Das Tetrabrom-Kynurin wäre also den entsprechenden Parakresol- und Phenolverbindungen analog und als Tribromkynurin-Brom, $C_9H_3Br_3N$. OBr, zu betrachten.

Das Tetrabrom-Kynurin löst sich mit gelber Farbe in Alkohol; beim Kochen der Lösung entweicht unter Abnahme der gelben Färbung Bromäthyl und Bromwasserstoff, und aus der Lösung krystallisieren beim Verdunsten weisse Nadeln von Tribrom-Kynurin, $C_9H_4Br_3NO$. Dasselbe löst sich leicht in heissem, schwer in kaltem Alkohol, gar nicht in Wasser, dagegen in den Alkalihydraten und fällt aus diesen Lösungen auf Zusatz von Säure.

Auch Kynurin gibt mit Bromwasser einen flockigen Niederschlag, der jedoch nicht krystallinisch, sonst aber der gelben Verbindung aus Kynurensäure sehr ähnlich ist. Beim Kochen mit Alkohol gibt dieser Niederschlag Brom ab und verwandelt sich gleichfalls in Tribromkynurin.

Mit Ammoniak färbt sich das Tribromkynurin nicht grün (Jaffe).

C. Darstellung. Zur Darstellung der Kynurensäure ist frischer Hundeharn zu verwenden; wenigstens hat Hofmeister aus gefaultem Hundeharn nur eine auffällig geringe Ausbeute erhalten. Man verfährt in folgender Weise.

a) Dem Harn werden auf 100 ccm 4 ccm konzentrierte Salzsäure zugesetzt und die Flüssigkeit 48 Stunden stehen gelassen (Voit), wobei auch Schwefel (aus der Thioschwefelsäure) ausfallen kann.

b) Man dampft den Harn entweder direkt oder nach der Fällung mit Bleizuckerlösung und Entfernung des überschüssigen Bleis durch Schwefelwasserstoff auf ein Drittel ein, säuert mit Salzsäure oder Salpetersäure an und lässt tagelang an einem kühlen Orte stehen (Schmiedeberg und Schultzen).

c) Der Harn wird mit Kalkmilch alkalisch gemacht und auf ein kleines Volumen eingedampft. Aus dem abfiltrierten Rückstand fällt man die Kynurensäure durch Zusatz von Salzsäure bis zur stärker sauren Reaktion und lässt die

[1]) M. Kretschy, Monatshefte f. Ch 4. 156. 1883; 5. 16. 1884.

[2]) M. Jaffe, Ztschr. f. physiol. Ch. 7. 399. 1883.

[3]) E. Baumann, Ztschr. f. physiol. Ch. 1. 62. 1877. — L. Brieger, Ztschr. f. physiol. Ch. 4. 89. 1880.

Digitized by Google

Flüssigkeit einige Tage stehen. Ein zu grosser Überschuss an Kalk muss vermieden werden, da sich sonst die Kynurensäure, besonders bei zu starkem Eindampfen, zum Teil zersetzt (Schneider) [1]).

d) Schmidt beschreibt das folgende von Jaffe angegebene Verfahren. Der Harn wird zum dicken Sirup eingedampft, mit frischem Alkohol ausgezogen und der Auszug 24 Stunden stehen gelassen. Dann wird die Lösung abfiltriert, der entstandene Niederschlag mit Alkohol nachgewaschen und die gesamte Flüssigkeit wieder zum Sirup eingedampft, dieser in Wasser gelöst und die Lösung nach dem Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure mit Äther ausgeschüttelt. Die Säure scheidet sich in gefärbten Krystallen teils an der Grenzschicht, teils am Boden des Kolbens ab. Sie wird abfiltriert, mit Wasser gewaschen, in Ammoniak gelöst und mit Säure vorsichtig wieder ausgefällt. Der in Alkohol unlösliche Anteil enthält keine Kynurensäure mehr. — Hauser [2]) hat das Verfahren dahin abgeändert, dass er aus dem alkoholischen Harnauszug die Kynurensäure direkt durch starkes Ansäuern mit Salzsäure fällte.

e) Es wird der Harn mit 0.1 Vol. konzentrierter Schwefelsäure, darauf abwechselnd mit Phosphorwolframsäure und Salzsäure versetzt, bis kein Niederschlag mehr entsteht, dieser mit auf das 20 fache verdünnter Schwefelsäure (durch Dekantieren) chlorfrei gewaschen, abgepresst, mit überschüssigem Baryumhydrat gekocht und die stark alkalische Lösung abfiltriert. Den überschüssigen Baryt kann man durch Kohlensäure entfernen. Man dampft dann auf ein kleines Volumen ein und versetzt mit Salzsäure bis zur stark sauren Reaktion (F. Hofmeister) [3]).

Von diesen Methoden gibt die von Hofmeister die beste Ausbeute, doch sind sie sämtlich mit einem kleinen Verlust an Kynurensäure verbunden, da bei Zusatz von zu wenig Säure Kynurensäure gelöst bleibt, bei Zusatz von zu viel, Kynurensäure wieder in Lösung gehen kann. Bromwasser gibt in solchem Falle mit dem Filtrat noch einen Niederschlag der Bromverbindung (B. 10, Baumann). Der Verlust an Kynurensäure wird um so grösser sein, je verdünnter die Lösung war, aus welcher sie gefällt wurde. Auch das vorläufige Fällen des Harns mit essigsaurem Blei (b) könnte einen Verlust an Kynurensäure nach sich ziehen (B. 2 b). Beim direkten Fällen des Harns mit Säure oder nach vorläufigem Eindampfen erhält man Flüssigkeiten, welche nur sehr langsam filtrieren und das Filter leicht verstopfen. Diese Übelstände werden wenigstens zum Teil vermieden bei der Methode e; ihr wesentlicher Vorzug besteht aber darin, dass man die Kynurensäure sogleich frei von Harnsäure erhält und von Schwefel, welcher sich bei Zusatz von Säure aus dem im Hundeharn häufig enthaltenen unterschwefligsauren Salz abscheidet.

In allen Fällen ist die Kynurensäure noch stark gefärbt und schon deshalb einer weiteren Reinigung zu unterziehen.

Der Schwefel lässt sich durch Waschen der trockenen Säure mit Schwefelkohlenstoff entfernen; den die Krystalle durchtränkenden Schwefelkohlenstoff entfernt man, ehe er verdunstet, durch Äther.

[1]) Schneider, Virchows Archiv **29**. 583.

[2]) A. Schmidt, Über das Verhalten einiger Chinolinderivate im Tierkörper. Diss. Königsberg 1884. 9. — A. Hauser, Arch. f. exper. Pathol. **36**. 5. 1895.

[3]) F. Hofmeister, Ztschr. f. physiol. Ch. **5**. 67. 1881.

Digitized by Google

Um die Kynurensäure von beigemengter Harnsäure zu trennen, kocht man nach Meissner und Shepard den Niederschlag eine Weile mit kohlensaurem Baryt und Wasser, filtriert heiss und säuert das eingedampfte Filtrat mit Salzsäure an. Oder man digeriert den Niederschlag mit Ammoniak, wobei die Kynurensäure leicht in Lösung geht. Stadthagen[1]) entzog dem Gemenge die Kynurensäure durch heissen absoluten Alkohol.

Die völlige Entfernung des Farbstoffs bietet grosse Schwierigkeiten dar. Eines grossen Teils des Farbstoffes wird man von vornherein ledig, wenn man nach Hofmeister die rohe Kynurensäure in verdünntem Ammoniak löst und die braune Flüssigkeit tropfenweise mit essigsaurem Blei versetzt, bis ein mässig starker Niederschlag entstanden ist. Das Filtrat ist dann weingelb und gibt auf Zusatz von Säure eine nur wenig gefärbte Säure, deren Barytsalz unter gleichzeitiger Verwendung von Tierkohle aus schwachem Ammoniak umkrystallisiert wird.

Niggeler[2]) erhielt fast farblose Krystalle von Kynurensäure durch Fällen des Harns mit Bleiessig, Zerlegen des Niederschlags mit Schwefelwasserstoff und Filtrieren der heissen Flüssigkeit.

Nach Schmiedeberg und Schultzen erhält man die Kynurensäure rein, wenn man sie in Ammoniak löst, die Lösung mit Tierkohle entfärbt und mit Essigsäure fällt. Das Verfahren muss vielfach wiederholt werden. Die Säure scheidet sich dabei langsam in grösseren, platten Nadeln ab, während die essigsaure Mutterlauge jedesmal eine ziemlich beträchtliche Menge Farbstoff neben wenig Kynurensäure in Lösung behält. Schneider, der ein gleiches Verfahren benutzte, aber mit Salzsäure fällte, macht darauf aufmerksam, dass man die Krystalle bald von der Mutterlauge trennen und waschen muss, um eine Wiederaufnahme des Farbstoffs durch die Krystalle zu verhüten.

Takeda[3]) erhielt auf folgende Weise die Kynurensäure farblos: Er löste den kynurensäurehaltigen Niederschlag, der mit Schwefelsäure sich aus dem Harn ausschied, in starkem Ammoniak und fügte tropfenweise Bleizuckerlösung zu, bis die Flüssigkeit nur noch hellgelb gefärbt war. Von der Fällung wurde abgesaugt, der Niederschlag mit Ammoniak gewaschen, das Waschammoniak mit der zuerst abgesaugten Flüssigkeit vereinigt und mit Schwefelsäure angesäuert, wobei die Kynurensäure rein weiss ausfiel. Enthält das Filtrat vom Bleiniederschlag überschüssiges Blei, so muss man dieses mit einigen Tropfen Ammonsulfid entfernen. Mit dem Zusatz von Bleizucker muss man vorsichtig sein, damit nicht kynurensaures Blei mit ausfällt und so Verluste entstehen.

Bereitung der Phosphorwolframsäure. Für viele Zwecke genügt ein Präparat, welches man erhält, wenn man eine heisse Lösung von 250 g wolframsaurem Natron mit so viel Phosphorsäure versetzt, bis die Flüssigkeit mit Salzsäure keinen flockigen Niederschlag mehr gibt. Die Lösung wird auf 1 Liter aufgefüllt. Diese rohe Säure schlägt aber manche Substanzen nicht oder nicht so vollkommen nieder, wie rein dargestellte Säure.

Ein vorzügliches Präparat erhält man nach einer von Kehrmann u. Freinkel[4]) gegebenen Vorschrift, die man, nach Hupperts Erfahrungen, in folgender Weise ausführt. Es werden 1 kg wolframsaures Natron und 150 g krystallisiertes phosphorsaures Natron, jedes für sich, aufgelöst, die Filtrate vermischt, bis zur Krystallhaut eingedampft und nach und nach mit 1 Liter Salzsäure von 1,12 Dichte vermischt. Nach dem Erkalten wird der entstandene Niederschlag von phosphorwolframsaurem Natron auf einem Trichter abgesogen, in dessen Spitze man eine Glaskugel gelegt hat. Die Mutterlauge lässt sich, wie die direkt aus Wolframat

[1]) G. Meissner u. C. U. Shepard, Untersuchungen über das Entstehen der Hippursäure im tierischen Organismus. Hannover 1866. 203. — Stadthagen, Virchows Archiv **109**. 418.

[2]) R. Niggeler, Archiv f. exper. Pathol. **3**. 70. 1875.

[3]) K. Takeda, Pflügers Archiv **133**. 395. 1910.

[4]) Kehrmann u. Freinkel, Ber. d. chem. Gesellsch. **24**. 2326. 1891.

Digitized by Google

und Phosphorsäure erhaltene Säure, zu Reaktionen verwenden. Die abgesogenen Krystalle werden in heissem Wasser gelöst, auf das Kilo (der Krystalle) mit einer heiss gesättigten Lösung von 120 g krystallisiertem Chlorbaryum vermischt und die Lösung wieder bis zur Krystallhaut eingedampft. Nach dem Erkalten wird das Barytsalz abgesogen und wenigstens zweimal umkrystallisiert. Hierbei lässt sich das Salz chlorfrei erhalten. Der Baryt wird aus der siedenden Lösung durch Schwefelsäure gefällt, wozu auf das Kilo Barytsalz 220 ccm 10 fach verdünnter Schwefelsäure erforderlich sind. Nach dem Erkalten filtriert man und dampft zur Krystallisation ein. Nach der Rechnung soll die Ausbeute 73% des wolframsauren Natrons betragen; es werden aber nur ungefähr 70% der berechneten Menge erhalten. — Man muss ein gutes Präparat von wolframsaurem Natron verwenden; es kommt Wolframat im Handel vor, welches sich zu verarbeiten nicht lohnt.

In Gegenwart von Mineralsäure werden durch die Phosphorwolframsäure niedergeschlagen ausser der Kynurensäure die Xanthinbasen und die Harnsäure, das Kreatinin und das Arginin, die Diaminofettsäuren und die Diamine (Putrescin etc.), Thetinkörper, Harnfarbstoffe, (Urochrom), die Eiweisskörper, das Glycogen und das Amylodextrin, ferner von anorganischen Substanzen das Kali und das Ammoniak. Diese letzteren beiden Salze sind in kaltem und heissem Wasser so gut wie unlöslich; das Ammonsalz ist feinpulverig und geht leicht auch durch ein dichtes Filter. Durch Baryum- oder Calciumhydrat im Überschuss lässt sich die Säure vollständig abscheiden.

D. Nachweis. Zum Nachweis von Kynurensäure im Harn direkt ist das Bromwasser, obwohl ein empfindliches Reagens auf Kynurensäure, nicht verwendbar, weil der Harn noch andere Substanzen (Phenole usw.) enthält, welche mit Brom einen gelben Niederschlag geben; es wird daher aus jedem Hundeharn mit Brom ein gelber amorpher, sich schlecht absetzender und schlecht filtrierender Niederschlag erhalten (Baumann, Brieger).

Dagegen dient für den Nachweis der Kynurensäure die Krystallform des Niederschlags, der auf Zusatz von Salzsäure oder Essigsäure zu dem Hundeharn entsteht (B. 1), die Krystallform des Barytsalzes (B. 2 a), welche sehr charakteristisch und für sich allein schon beweisend ist, ferner bei Abwesenheit anderer sich ähnlich verhaltender Substanzen die Bildung eines zitronengelben, beim Stehen bald krystallinisch werdenden Niederschlags auf Zusatz von Bromwasser zu einer Lösung der Säure (B. 10), und endlich die Bildung von rhombischen Täfelchen auf Zusatz von Phosphorwolframsäure zu einer selbst sehr verdünnten, mit Salzsäure angesäuerten Lösung der Säure. Alle diese Reaktionen werden jedoch an Empfindlichkeit und Sicherheit durch die von Jaffe angegebene, auf der Bildung von Tetrachloroxykynurin (B. 9) beruhende, übertroffen.

Die Probe wird mit Salzsäure und chlorsaurem Kali auf dem Wasserbad oder vorsichtig über der freien Flamme verdunstet. Bei Gegenwart von Kynurensäure wird der rötliche Rückstand nach dem Befeuchten mit Ammoniak zunächst grünbraun und nach kurzer Zeit smaragdgrün. Die Stärke der Färbung nimmt beim Stehen an der Luft erheblich zu. Beim Erwärmen geht das Grün in schmutzig violett über. Diese Reaktion, bei welcher die Nebenprodukte des Tetrachloroxykynurins mehr beteiligt zu sein scheinen als dieses selbst, gelingt mit minimalen

Digitized by Google

Mengen Kynurensäure um so schöner, je reiner die Säure ist, doch ist sie auch mit der gefärbten rohen Säure sehr deutlich. Kein anderer normaler Harnbestandteil gibt diese Probe.

Die milchige Trübung, welche Hundeharn auf Zusatz von Säure annimmt, ist kein Anzeichen der Kynurensäure, sondern rührt von dem Schwefel her, welcher aus der unterschwefligen Säure abgeschieden wird.

E. Bestimmung. Capaldi[1]) hat nach folgenden Methoden untersucht, wieviel von 0,05—0,12 g Kynurensäure, welche 100 ccm Hundeharn in ammoniakalischer Lösung zugesetzt worden war, wiedergefunden wurde.

Bei 1—2 b war der Harn, dem die zu ermittelnde Menge Kynurensäure zugesetzt wurde, frei von Kynurensäure, bei 3 wurde die schon vorhandene Kynurensäure nach 2 a und 3 bestimmt.

1. Verfahren von Schmiedeberg und Schultzen (C. b).

2 a) Eine Abänderung des Verfahrens von Jaffe (C. d). Der eingedampfte Harn wurde so oft mit heissem Alkohol ausgezogen, bis das Filtrat farblos ablief. Der Alkohol wurde verdunstet, der Rückstand in ungefähr 30 ccm Wasser gelöst, mit 4%iger Salzsäure versetzt und 24 Stunden stehen gelassen.

2 b. Die nach 2 a abgeschiedene Kynurensäure wurde in Ammoniak gelöst und wieder mit Salzsäure gefällt.

Die bei 1—2 b erhaltenen Niederschläge wurden nach 24 Stunden nacheinander mit Wasser, Schwefelkohlenstoff und Äther gewaschen, getrocknet und gewogen. Die Säure war immer gefärbt.

3. Eigenes Verfahren. Der Harn wurde mit dem halben Volumen einer mit 5%igem Ammoniak versetzten 10%igen Chlorbaryumlösung vermischt, das Filtrat auf ungefähr 30 ccm eingedampft, mit 4%iger Salzsäure versetzt, der Niederschlag nach 16—24 Stunden abfiltriert, mit 1%iger Salzsäure gewaschen, in ein Becherglas gespritzt und in Ammoniak gelöst. Die Lösung wurde auf dem Wasserbad vom freien Ammoniak befreit, filtriert und wieder mit 4%iger Salzsäure versetzt. Nach etwa 6 Stunden wurde der nun weisse Niederschlag mit 1%iger Salzsäure und zweimal mit Wasser gewaschen, bei 100° getrocknet und gewogen.

Nach 1 wurde von der zugesetzten Kynurensäure im Mittel 94,5%, nach 2a 104,5%, nach 2b 96,45%, nach 3 mit dem kynurensäurehaltigen Harn 96,8% und nach 2a 101,1%, wiedergefunden. Solomin[2]) fand nach dem Verfahren von Capaldi von 0,210 g Kynurensäure, welche 480 ccm Harn zugesetzt worden waren, 0,2079 g (99%) wieder.

Lithursäure.

Vorkommen. Die Lithursäure wurde bisher nur einmal beobachtet; sie ist von G. Roster[3]) in rundlichen Konkrementen aufgefunden worden, welche von schwer arbeitenden Ochsen, die hauptsächlich die saftigen Stengel von blühendem Mais als Futter erhielten, von Zeit zu Zeit mit dem Harn entleert wurden. Der grösste der Steine wog 1,02 g, der kleinste 0,15 g. Sie waren sehr leicht, schwammen indes auf Wasser nicht. Ihre Farbe war ein helles Strohgelb von zuweilen graulicher Nuance. Auf den Bruchflächen zeigten sie keine Schichtung, aber deutlich krystallinische Struktur. Zwischen den Fingern liessen sie sich nicht zer-

[1]) A. Capaldi, Ztschr. f. physiol. Ch. 23. 92. 1897.
[2]) P. Solomin, Ztschr. f. physiol. Ch. 23. 498. 1897.
[3]) G. Roster, Ann. d. Ch. 165. 404.

Digitized by Google

drücken, aber sehr leicht im Mörser pulvern. Die Bruchstücke bestanden aus durchsichtigen, der Hippursäure ähnlichen Prismen, dem Magnesiumsalz der Lithursäure; daneben waren noch Spuren kohlensaurer Kalk und etwas Mucin vorhanden.

Eigenschaften. Der Säure kommt nach der Analyse des Magnesiumsalzes die Formel $C_{29}H_{38}N_2O_{17}$, oder vielleicht $C_{15}H_{19}NO_9$ zu. Sie scheidet sich aus der warm gesättigten Lösung des Magnesiumsalzes nach Zusatz von Salzsäure beim Erkalten in schneeweissen, seidenglänzenden, feinen Nadeln ab, die bei 204—205° schmelzen, sich in siedendem Wasser ziemlich, in siedendem Alkohol leicht, in den kalten Flüssigkeiten bedeutend schwerer lösen.

Das Magnesiumsalz $C_{29}H_{36}MgN_2O_{17}$ oder vielleicht $(C_{15}H_{18}NO_9)_2Mg$ — die Analyse stimmt besser zur ersten Formel — wurde durch Umkrystallisieren der Konkremente aus heissem Wasser gewonnen. Durchsichtige, seidenglänzende, klinorhombische Prismen mit je zwei zuspitzenden Flächen an den Enden. Das Salz löst sich in siedendem Wasser ziemlich leicht, schwerer in kaltem Wasser, nicht in Alkohol oder in Äther. Auf dem Platinblech schwärzt es sich, schmilzt, verbrennt fast ohne Flamme und verbreitet dabei den Geruch des verbrennenden Zuckers. Beim Kochen mit Kalilauge entwickelt es kein Ammoniak, wohl aber beim Glühen mit Natronkalk.

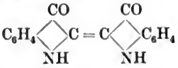
Farbstoffe, die den Indolkern enthalten.

I. Indigblau.

$C_{16}H_{10}N_2O_2$.

Syn.: Indigo, Indigotin.

Dass dem Indigoblau die Formel



zukommt, ist durch die klassischen Arbeiten von A. Baeyer[1]) aus den Jahren 1866 bis 1869 und 1878—1884 bewiesen.

A. Vorkommen. Beim Stehen scheidet sich in manchen Harnen, wie schon Galen erwähnt, spontan Indigo ab. (Historisches siehe bei Maillard, L'indoxyle urinaire Paris 1903, S. 90 ff.) Der blaue Farbstoff ist mit den verschiedensten Namen bezeichnet worden (s. Indoxyl S. 797). Die Erscheinung hat später in der leichten Zersetzlichkeit der gepaarten Indoxylverbindungen, namentlich der Indoxylglycuronsäure (s. S. 803) ihre Erklärung gefunden. Es wurden auch Fälle beobachtet, bei welchen der frisch entleerte Urin ein Sediment von Indigblau absetzte (Wolff, Phedran und Goldie, Reale, Wang, Dixon Mann)[2]). Auch in Harnsteinen ist Indigoblau von Ultzmann und von Ord gefunden worden (s. Harnsedimente 13 a). Die

[1]) A. v. Baeyer, Zur Geschichte der Indigo-Synthese. Ber. d. chem. Gesellsch. **33**. Sonderheft S. 41. 1900.

[2]) H. Wolff, Über Indigurie, Inaug.-Diss. Berlin 1887, dort Lit. — Phedran u. Goldie, Brit. med. Journ. 1901. Okt. zit. n. Jahresb. f. Tierch. **32**. 786. — Reale, La nuova riv. clinico-therapeut. **5**. 121. 1902. zit. n. Jahresb. f. Tierch. **32**. 818. — E. Wang, Festschr. f. E. Salkowski, Berlin 1904. S. 397. — J. Dixon-Mann, Medic. Chronicle 1905. 361. zit. n. Jahresb. f. Tierch. **35**. 830.

Digitized by Google

Zersetzung und Oxydation der Indoxylglycuronsäure zu Indigo dürfte wohl zuweilen durch Bakterienwirkung in der Blase bei cystitischen Prozessen erfolgen. In dem Falle von Wang, der zur Sektion kam, scheint sich der Farbstoff in der tuberkulösen linken Niere gebildet zu haben. Auch Daremberg und Perroy beobachteten Indigurie bei Tuberkulösen im Magenharn. In mehreren von den acht Fällen, die Wolff anführt, lagen ebenfalls Nierenerkrankungen vor, ebenso in einem Fall von Bogdanow-Beresowsky[1]), in dem die Indigomenge 3,3 g (?) betragen haben soll.

B. Eigenschaften. 1. Das Indigblau bildet ein dunkelblaues amorphes Pulver oder mikroskopische Krystalle. Das sich aus Harn absetzende erscheint öfter in feinen gekrümmten, sternförmig angeordneten Nadeln oder Plättchen; aus manchen Lösungsmitteln krystallisiert es in Nadeln oder Tafeln. In dichten Massen zeigt das amorphe Indigotin, namentlich auf dem Striche, ebenso wie die Krystalle, einen kupferroten Metallglanz. Es sublimiert mit violettem, jodähnlichen Dampf, der sich krystallinisch verdichtet.

Sein Dampf zeigt nach Rosin[2]) nicht bloss das Absorptionsspektrum des Indigblaus, sondern daneben auch das des isomeren Indigrots, und dem Sublimat lässt sich auch dann durch Äther Indigrot entziehen, wenn reines Indigblau zu dem Versuch verwendet wurde.

2. In Wasser ist das Indigblau unlöslich. Chloroform löst es schon in der Kälte, Alkohol in der Wärme in nicht unbedeutender Menge, Äther dagegen nur in Spuren.

Auch löst es sich in der Wärme in Methylalkohol, Amylalkohol, Benzol, Nitrobenzol, Phenol, Anilin, ätherischen und fetten Ölen, und krystallisiert aus einigen dieser Lösungsmittel beim Erkalten wieder aus.

3. Sehr fein verteilter, in Wasser suspendierter Indigo zeigt nach Vierordt ein schlecht begrenztes Absorptionsband im Rot zwischen a und B 25 C; in dickeren Schichten verbreitert sich das Band bis C 10 D, und dann erscheint noch ein zweites, sehr schwaches, gleichfalls schlecht begrenztes Absorptionsband im Grün zwischen D 50 E und D 77 E. Wie das suspendierte Indigblau verhalten sich nach Stokvis[3]) auch seine Lösungen in indifferenten Flüssigkeiten.

Die Indigblauschwefelsäure oder ihre Salze absorbieren nach Vierordt das äusserste Rot am wenigsten, die Absorption nimmt schnell zu, und es tritt im Orange, zwischen C 65 D und C 90 D ein Absorptionsband auf; dann sinkt die Absorption wieder kontinuierlich bis zum violetten Ende des Spektrums, die Absorption im Blau ist dabei aber etwa 12 mal so stark wie im Rot.

4. Verdünnte Säuren oder Alkalien greifen das Indigblau nicht an. Konzentrierte Schwefelsäure verbindet sich mit ihm zu Monosulfosäure (Phönicin- oder

---

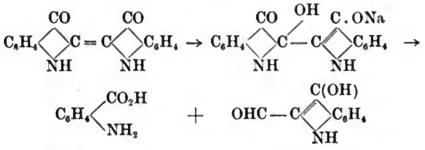
1) Auch Daremberg et Ph. Perroy, Bull. de l'Acad. de méd. d. Paris [3] **55.** 702. 1907; zit. nach Jahresb. f. Tierch. **36.** 319. — M. Boydanow-Beresowsky, Wratsch. 1897. Nr. 25; zit. nach Jahresb. f. Tierch. **27.** 742.

2) H. Rosin, Virchows Archiv **123.** 561. 1891.

3) C. Vierordt, Ztschr. f. Biologie **10.** 31. 1874; **11.** 187. 1875. — B. J. Stokvis, Chem. Zentralbl. 1871. 36.

Digitized by Google

Purpurschwefelsäure), deren Salze in trockenem Zustand rot, in Lösung blau sind; rauchende Schwefelsäure liefert Disulfosäure (Cörulin- oder Indigblauschwefelsäure), deren Salze in Lösung wie in trockener Form blau sind. — Sehr konzentrierte Kalilauge verwandelt es nach Heumann und Bachofen leicht in Indoxyl. — Nach Friedländer und Schwenk[1]) entsteht bei der Kalischmelze aus Indigoblau neben Indoxyl Anthranilsäure und Indoxylaldehyd:



Anthranilsäure Indoxylaldehyd

5. Oxydierende Substanzen, wie Chlor, Salpetersäure, entfärben das Indigotin unter Bildung von Isatin und Abkömmlingen desselben; andere Oxydationsmittel (übermangansaures Kali etc.) entfärben das Indigblau gleichfalls. Bei gleichzeitiger Gegenwart anderer oxydabler Substanzen, wie gewisser Harnbestandteile (Harnstoff etc.), erfolgt diese Oxydation des Indigos weniger leicht. Dieselbe Farbenveränderung erleiden auch die Phönicin- und die Indigblauschwefelsäure.

6. Bei Gegenwart von alkalischen Substanzen (Kalilauge, Calciumhydrat) und leicht oxydierbaren Körpern (Alkalisulfide, Zink, Zinn, Eisen, Eisenvitriol, Zinnoxydul, Traubenzucker, Harn) wird das Indigotin unter Wasserstoffaufnahme zu Indigweiss, $C_{16}H_{12}N_2O_2$, das sich bei Zutritt von Luft wieder in Indigblau verwandelt (Indigküpe).

C. Nachweis. In welcher Weise Indigblau aus Harn dargestellt und nachgewiesen wird, ist bei Indoxyl S. 805 angegeben. Zum Nachweis desselben in blauen Sedimenten und in Harnsteinen digeriert man sie zunächst mit verdünnter Salzsäure, wäscht auf dem Filter mit Wasser, trocknet das Filter und zieht es mit Chloroform aus. Die Lösung untersucht man spektroskopisch.

Urobilin lässt sich aus der Chloroformlösung durch Schütteln derselben mit verdünntem Alkali entfernen, Indigrot durch Behandeln des Abdampfungsrückstandes mit Äther, welcher das Indigrot viel leichter löst als das Indigblau.

Lässt sich das blaue Pulver leicht vom Filter ablösen, so kann man es auch in konzentrierter Schwefelsäure lösen und die Lösung der spektroskopischen Untersuchung unterwerfen.

Um Verwechslungen mit Methylenblau, das als Arzneimittel oder zu diagnostischen Zwecken gegeben ist, zu vermeiden, prüft man nach Beddard[2]) am besten das Chloroformextrakt des Urins spektroskopisch. Methylenblau gibt ein schmales dunkles Band im Rot, so dass schon mit einem Taschenspektroskop die Unterscheidung vom Indigoblau möglich ist. Als weitere Unterscheidungsmerkmale führt Beddard an: Äther nimmt Indigo, aber nicht Methylenblau auf.

[1]) K. Heumann u. F. Bachofen, Berichte der chem. Gesellsch. 26. 225. 1893. — P. Friedländer u. E. Schwenk, ebenda 43. 1971. 1910.

[2]) A. P. Beddard, Guys Hospital Reports 56. 127. 1902.

Methylenblau entfärbt sich im Urin in geschlossener Flasche leicht durch Reduktionswirkung von Bakterien, Indigo viel langsamer. — Beim Erhitzen einer Urinprobe mit starker Salzsäure verschwindet die Methylenblaufärbung schnell, kehrt aber beim Schütteln mit Luft wieder, Indigo verändert sich nicht mit Salzsäure.

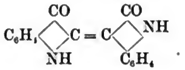
II. Rote Farbstoffe.

Indigorot.

Syn. Indirubin.

$C_{16}H_{10}N_2O_2$.

Das Indigorot, das sich in dem Pflanzenindigo stets neben dem isomeren Indigoblau findet, ist synthetisch aus Isatin und Indoxyl von Baeyer erhalten worden, der es als Indogenid des Isatins (s. Indoxyl S. 802) erkannte und ihm die Formel



zuwies. Diese Konstitutionsformel ist neuerdings durch Wahl und Bagard bestätigt, und die Einwände von Maillard [1]) gegen die Baeyersche Formel sind von ihnen zurückgewiesen worden.

A. Vorkommen. Das Indigrot ist, wie das Indigblau, ein Zersetzungsprodukt der Indoxylschwefelsäure und der Indoxylglykuronsäure und ist bei jeder Bildungsweise immer von Indigblau begleitet. Es entsteht aus der Indoxylschwefelsäure bei der Einwirkung nicht oxydierender Säuren (Salzsäure, Schwefelsäure) auf Harn, sowie bei der gleichzeitigen Behandlung des Harns mit Säuren und Oxydationsmitteln, mit Salpetersäure allein bei der Rosenbachschen Probe, mit Salzsäure und Chlorkalk bei der Jaffeschen Indicanprobe, in beiden Fällen reichlicher in der Wärme als in der Kälte, und bildet sich manchmal bei der alkalischen Harngärung allein oder doch vorwiegend aus der Indoxylglykuronsäure. Bei der Harngärung scheidet es sich in fester Form aus dem Harn ab. Unter der Einwirkung von Säure, mit oder ohne Oxydation, auf den Harn kann zugleich Urorosein entstehen.

Über die Bildungsweisen der Indoxylverbindungen ist bei diesen berichtet. Dem Indigrot ähnliche Farbstoffe stellten Niggeler nach dem Einverleiben von Isatin $C_8H_5NO_2$, sowie Masson und Nencki [2]) nach der Zufuhr von Oxindol C_8H_7NO und Dioxindol $C_8H_7NO_2$ direkt aus dem Harn dar.

[1]) A. Baeyer, Ber. d. chem. Gesellsch. 16. 2188. 1883. — A. Wahl u. P. Bagard, Bull. Soc. Chim. d. France [4] 7. 1090. 1910 u. 9. 56. 1911. — L. C. Maillard ebenda 5. 1153. 1910 u. L'indoxyle urinaire Paris 1903. S. 34; s. auch A. Ellinger, Ztschr. f. physiol. Ch. 41. 30. 1903.

[2]) Niggeler, Archiv f. exper. Pathol. 3. 72. 1875; Nencki, Berichte d. chem. Gesellsch. 7. 1594. 1874.

Das durch nichtoxydierende Säuren entstehende Indigrot ist von Heller Urrhodin, von Plosz Ürorubin benannt und von beiden zuerst näher untersucht worden. Weitere Literaturangaben über rote Harnfarbstoffe, die vermutlich mit Indigorot identisch waren, findet man bei Maillard. — Mit der Untersuchung der bei der Rosenbachschen Reaktion entstehenden Farbstoffe hat sich Rosin eingehend beschäftigt. — Das Auftreten eines roten Farbstoffs neben Indigblau bei der Indicanprobe ist von Jaffe selbst beobachtet worden; die Anwendung von Bromwasser oder Eisenchlorid statt Chlorkalk hat denselben Erfolg (Rosin). Fälle (Typhus, Icterus), in welchen das Indigrot dabei in auffällig grossen Mengen auftrat, haben Fr. Müller und Krukenberg beschrieben. — Beobachtungen über die Bildung von Indigrot bei der Fäulnis von (meist eiweisshaltigem) Harn sind veröffentlicht worden von Nencki und Niggeler, von Plosz und von Rosin. In Harnsteinen ist es von Heller, in einem Nierenstein von Ord, in einem anderen, von Chiari beschriebenen, von Hofmeister nachgewiesen worden. Reale hat das Vorkommen von krystallisiertem Indirubin als Harnsediment beschrieben und Gröber[1]) berichtet von einem rosaroten Urin, aus dem durch Extraktion mit Chloroform oder Äther Indigorot erhalten wurde.

Nach Rosin entsteht es in grösserer Menge in Harnen, welche bei der Rosenbachschen Probe burgunderfarben werden, also bei schweren Darmerkrankungen (Ileus, Brucheinklemmung, gewisse Formen von schwerer Diarrhöe), bei schweren Ernährungsstörungen (manchen Formen der Phthise, Krebskachexie, bei vielen Kranken gegen das Lebensende). Aber auch bei vielen anderen Krankheiten, welche die Rosenbachsche Reaktion nicht gut geben, tritt es reichlich auf. Choleraharn liefert es nach Thudichum und nach Wyss[2]) in grosser Menge. Aus normalen Harnen lassen sich nur Spuren darstellen. Da die Menge des gebildeten Indigrot nicht bloss abhängig ist von der Menge der Indigobildner, sondern auch von der Art der Zersetzung dieser, so haben solche Bestimmungen nur einen bedingten Wert. Aus indicanreichen Tierharnen (Rinder, besonders Pferde) kann es nach Rosin in grosser Menge gewonnen werden.

B. Eigenschaften. 1. Nach der Untersuchung von Rosin ist das Indigrot identisch mit dem im rohen Indigo enthaltenen, von Schunck Indirubin benannten roten Farbstoff, und nach Schunck und Marchlewski[3]) dieses wieder identisch mit dem von Baeyer durch Reduktion des Isatinchlorids erhaltenen Indigpurpurin und mit der von Baeyer dargestellten und gleichfalls als Indirubin bezeichneten Verbindung von Isatin mit Indoxyl. Indigrot ist isomer mit Indigblau.

[1]) Heller, dessen Archiv 1845. 170; 1846. 536. 539. — P. Plósz, Ztschr. f. physiol. Ch. 8. 85. 1883. — O. Rosenbach, Berliner klin. Wochenschr. 1. 13. 17. 22. 23. 1889. — H. Rosin, Zentralbl. f. klin. Med. **29**. 1889. 505; Virchows Archiv **123**. 519. 1891. — Jaffe, Virchows Archiv **70**. 73. 1877. — Krukenberg, Verhandlungen der physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg [2] 18. 192. 1884. — M. Nencki, Berichte d. chem. Gesellsch. 7. 1593. 1874. — Niggeler, Archiv f. exper. Pathol. **3**. 70. 1875. — Plósz, Ztschr. f. physiol. Ch. **6**. 504. 1882. — Rosin, Virchows Archiv **123**. 538. — Heller, dessen Archiv 1846. 21. — Ord, Berliner klin. Wochenschr. **15**. 365. 1878. — Chiari, Prager med. Wochenschr. 50. 1888. 541. — E. Reale, La nuova Rivista Clinico-Terapeut. **7**. 505. 1904 zit. n. Jahresb. f. Tierch. **34**. 924. — A. Gröber, Münchener med. Wochensch **51**. 61. 1904.

[2]) Rosin, Virchows Archiv **123**. 535. — Thudichum, Ninth Report of the med. officer of the privy council 1866 u. Tenth Report 1867. 188. — O. Wyss, Archiv f. Heilkunde **9**. 237. 1868.

[3]) E. Schunck u. L. Marchlewski, Berichte d. chem. Gesellsch. **28**. 540. 1895.

Digitized by Google

2. Es krystallisiert (auch aus Harn) in schokoladebraunen, oft sternförmig angeordneten Nadeln oder in rhombischen Plättchen mit Kupferglanz; im durchfallenden Licht erscheinen die Krystalle granatrot. Das amorph abgeschiedene Indigrot besitzt eine kirschrote Farbe. Die Substanz beginnt ohne vorher zu schmelzen, bei 295—310⁰ zu sublimieren und sublimiert vollständig bei 340⁰ mit violettem Dampf und charakteristischem Indiggeruch; der Dampf kondensiert sich zu feinen Nadeln, zum Teil auch braunen Körnchen.

3. Das Indigrot ist unlöslich in Wasser, verdünnter Salzsäure und Schwefelsäure, in Alkalien, in Benzol, Ligroin, Petroläther, löst sich dagegen in Methyl-, Äthyl-, Amylalkohol, in Äther, Essigäther, Aceton, Chloroform, Benzol, Phenol, Nitrobenzol, Anilin, Paraffin, ätherischen Ölen (namentlich in der Wärme), heissen fetten Ölen; Eisessig oder Essigsäureanhydrid lösen den Farbstoff leicht. Konzentrierte Schwefelsäure löst es als Sulfosäure.

Diese Lösungen besitzen eine kirschrote Farbe; ein Stich ins Blaue rührt nach Schunck und Marchlewski von beigemischtem Indigblau her und verschwindet mit diesem.

Die Löslichkeit des Indigrots ist nicht bedeutend. In kaltem Chloroform löst es sich wenig, in siedendem Chloroform leichter als in Alkohol und in diesem besser als in Äther. Es krystallisiert leicht aus den heiss gesättigten Lösungen in Chloroform, Äther, Anilin beim Erkalten. Bei dem Verdünnen seiner Lösung in Alkohol oder in Eisessig mit Wasser, oder der Lösung in Chloroform mit dem doppelten Volumen Ligroin scheidet es sich krystallinisch ab. Bei raschem Verdunsten seiner Lösungen wird es amorph erhalten (Rosin). — Seinen Lösungen in Chloroform oder Äther kann es durch Alkalilösungen (auch Ammoniak) nicht entzogen werden.

4. Spektrum. Konzentrierte Lösungen absorbieren das Spektrum von D bis F 23 G (bis Blau), wobei auch das violette Ende erheblich verdunkelt ist. Der Streifen ist gegen das Gelb hin verwaschen. Verdünntere Lösungen bieten eine auf beiden Seiten schmälere Absorption dar, die aber auch in schwachen Lösungen noch eine beträchtliche Ausdehnung besitzt (D 12 E — E 65 F).

5. Durch Salzsäure wird das Indigrot selbst in der Wärme nicht verändert. In konzentrierter Schwefelsäure löst es sich unter Bildung von Indigrotschwefelsäure.

Die Lösung ist anfangs schmutzig grauschwarz oder braunviolett, nimmt bei einigem Stehen eine schönere Farbe an und wird beim Erhitzen bedeutend heller und feurig kirschrot. Sie gibt dasselbe Spektrum wie die Lösungen des Indigrot selbst. Die Säure lässt sich mit Soda neutralisieren, ohne ihre Farbe zu verlieren; sie selbst und ihre Alkalisalze lösen sich nach Rosin auch in Alkohol, aber nicht in Äther und in Chloroform. Aus der verdünnten Lösung scheidet Kochsalz dunkelviolette Flocken ab. Seide und Wolle färbt sie purpurn und echt, auch Baumwolle färbt sie; durch überschüssiges Alkali wird sie zersetzt.

6. Oxydationsmittel zerstören das Indigrot, doch ist es beständiger als Indigblau.

Kalte konzentrierte Salpetersäure löst Indigrot mit purpurner Farbe, die Lösung wird aber (in der Wärme) rot und gelb, wie es scheint unter Bildung von

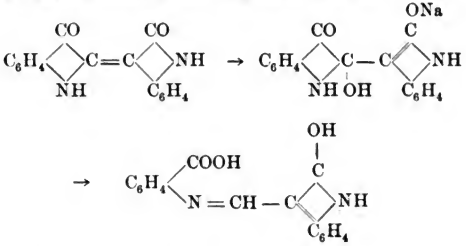
Digitized by Google

Pikrinsäure. Königswasser, Chlorkalk und Salzsäure, Kaliumchromat und Schwefelsäure oxydieren gleichfalls. Setzt man einer alkoholischen Lösung Alkali hinzu, so wird sie, nach Schunck und Marchlewski, mit der Zeit braunrot, dann nach und nach blasser und farblos, unter Bildung von Isatin; Wasserstoffsuperoxyd beschleunigt diese Oxydation.

Beim Kochen des Indigrots mit Lauge entsteht nach Rosin ein brauner Körper.

Friedländer und Schwenk[1]) erhielten beim Kochen von Indirubin mit konzentrierter wässeriger Natronlauge auf 150° das krystallinische, in Wasser sehr schwer lösliche Natriumsalz der Säure $C_{16}H_{12}N_2O_3$, die aus Nitrobenzol in langen glänzenden gelblichen Nadeln vom Schmelzpunkt über 295° krystallisiert und ein Kondensationsprodukt von α-Oxyindol-β-aldehyd und Anthranilsäure darstellt.

Die Reaktion verläuft nach folgendem Schema:



7. In Berührung mit den alkalischen Lösungen reduzierender Substanzen (Traubenzucker, Zinkstaub, Zinnoxydul) bildet das Indigrot eine farblose Lösung von Indirubinweiss, welche an der Luft wieder rot wird, gibt also, wie Indigblau, eine Küpe.

Die Ausscheidung von Indigrot aus gefaultem Harn bei Luftzutritt ist eine ganz analoge Erscheinung.

Saure Reduktionsmittel (Zinn und Salzsäure, Eisessig und Zinkstaub) entfärben das Indigrot auch, wobei zunächst wieder Indirubinweiss entsteht. Bei weiterer Reduktion bildet sich aber nach Forrer[2]) ein an der Luft farblos bleibender, krystallisierender Körper, das Indileucin.

C. Darstellung.

1. Nach Plósz[3]). Kocht man Harn 10—20 Minuten mit 5—10%iger Salzsäure, so scheidet sich neben Indigo auch Urorubin ab. Man schüttelt den braungewordenen Harn mit Äther oder Chloroform, destilliert das Lösungsmittel ab, wäscht den Rückstand mit heissem Wasser, löst in Äther, wobei etwas Indigo zurückbleibt und entfernt einen Rest Urobilin durch Schütteln mit sehr verdünnter Natronlauge. Der Äther hinterlässt eine dunkel kirschrote, spröde, undeutlich krystallinische Masse; bei sehr langsamem Verdunsten der ätherischen, besser der alkoholischen Lösung erhält man mikroskopische, rhombische Plättchen.

[1]) P. Friedländer u. E. Schwenk, Ber. d. chem. Gesellsch. **43**. 1973. 1910.

[2]) Forrer, Berichte d. chem. Gesellsch. **17**. 977.

[3]) P. Plósz, Ztschr. f. physiol. Ch. **8**. 85.

Digitized by Google

2. Nach Rosin[1]). Indicanreicher Harn wird mit basisch essigsaurem Blei ausgefällt, aus dem Filtrat das überschüssige Blei mit Salzsäure entfernt, die abermals filtrierte Flüssigkeit auf das Liter mit ungefähr 20 g Salpetersäure versetzt und sofort in einem grossen Kolben zum Sieden erhitzt, wobei sie erst dunkelbraun, dann violett und endlich kirschrot wird. Jetzt wird, um die Oxydation des gebildeten Indigrots durch die Salpetersäure zu verhüten, die Flüssigkeit schnell abgekühlt und mit Natriumcarbonat in Substanz bis zu schwach saurer Reaktion versetzt. Der sich bildende Niederschlag, welcher aus Indigrot neben Indigblau und brauner Substanz besteht, wird auf einem Filter mit kohlensaurem Natron, darauf mit Wasser gewaschen und nach dem Trocknen so oft mit Chloroform ausgekocht, bis es sich nicht mehr purpurn, sondern blau färbt. Man destilliert dann so viel Chloroform ab, bis die Flüssigkeit ihre kirschrote Farbe verloren hat und rein braun geworden ist, bringt nach dem Erkalten das ausgefallene Indigrot auf ein Filter und wäscht es mit Chloroform. Wenn dieses nicht mehr braun, sondern schön purpurn abfliesst, wird der Niederschlag zur Entfernung des Indigblaus und des Restes brauner Substanz so oft mit Äther ausgekocht, als dieser noch rein rot wird, dann der Äther abdestilliert, bis sich Krystalle abzuscheiden beginnen. Nach 24 Stunden werden diese abfiltriert. Durch nochmaliges Umkrystallisieren aus Äther erhält man das Indigrot analysenrein. — Die Ausbeute ist sehr gering; aus 300 Liter indicanreichem Harn gewinnt man kaum mehr als 1 g Farbstoff. — Normalen Harn dampft man vor dem Ausfällen mit dem Bleisalz zweckmässig auf ein Zehntel ein.

D. Nachweis. Das Indigrot kann mit dem gleichfalls bei der Einwirkung von Säure allein oder Säure und Oxydationsmittel auf Harn entstehenden Urorosein verwechselt werden. Um diese zwei Farbstoffe zu trennen, neutralisiert man den Harn und schüttelt ihn (im Reagenzglas) mit Äther aus, welcher das Indigrot aufnimmt, das Urorosein aber nicht. Färbt sich der Äther dabei rot, so untersucht man die Lösung spektroskopisch. Man verdunstet darauf den Äther und behandelt den Rückstand mit Alkohol, welcher Indigrot mit schön roter Farbe aufnimmt; erwärmt man diese Lösung mit etwas Natriumcarbonat und Traubenzuckerlösung, so verliert sie ihre rote Farbe, wenn Indigrot zugegen war, und nimmt sie beim Schütteln mit Luft wieder an.

Vom Skatolrot unterscheidet sich das Indigrot durch die Unlöslichkeit des Skatolrots in Äther und Chloroform.

Harnsedimente, Harnsteine, mit Säure aus dem Harn gefällte Harnsäure sind blau oder amethystrot gefärbt, wenn sich Indigblau und Indigrot mit abgeschieden haben; ihnen kann man das Indigrot direkt mit Äther entziehen, oder man behandelt sie mit Alkohol, dampft die Lösung ein und extrahiert den Rückstand mit Äther.

Bei der Behandlung indicanreichen, eiweisshaltigen Harns mit Salpetersäure scheidet sich das Eiweiss mit violetter Farbe ab (Heller); aus diesem Niederschlag lässt sich das Indigrot in derselben Weise gewinnen, wie aus den Sedimenten.

Um das Indigrot in dem Chloroform nachzuweisen, welches bei der Jaffeschen Indicanprobe die Indigfarbstoffe aufgenommen hat, wäscht man nach Rosin das Chloroform zur Entfernung brauner Substanzen mit verdünntem Ammoniak oder Natriumcarbonat, verdunstet das Chloroform und zieht den Rückstand mit Äther aus.

Vom Indigblau lässt sich das Indigrot am besten durch Äther trennen; dieser nimmt das Rot viel besser auf, als das Blau. — Dem Indigrot beigemengtes Urobilin lässt sich ihm durch Schütteln der Lösung beider Farbstoffe mit verdünnter Lauge entziehen.

[1]) Rosin, a. a. O. 539.

Digitized by Google

Urorosein.

Nencki und Sieber[1]) beobachteten in etwa 10% der von ihnen untersuchten pathologischen Harne folgende Farbstoffreaktion: Der Harn gab, in der Kälte mit $^1/_{10}$ Volum 25%iger Schwefel- oder Salzsäure versetzt, eine rötliche bis rosarote Färbung. Der Farbstoff ging in Amylalkohol, färbte Wolle und gab einen charakteristischen Absorptionsstreifen zwischen D und E, genau an der gleichen Stelle wie der Streifen der käuflichen Fuchsinsulfosäure. Diesen Farbstoff nannten Nencki und Sieber Urorosein.

Später hat sich Rosin[2]) mit dem Farbstoff beschäftigt. Da aber Rosins kurze Angaben sich auf Farbstoffe beziehen, die zum Teil aus Harnen mit Säure und Oxydationsmitteln, zum Teil auch erst bei höherer Temperatur gewonnen waren, so ist es zweifelhaft, ob Rosin bei seinen Untersuchungen, über die er nur zusammenfassend berichtet hat, stets denselben Farbstoff vor sich hatte, und ob man seine Angaben auf das Urorosein beziehen darf.

Herter hat schliesslich den Beweis erbracht, dass zum prompten Auftreten der Uroroseinreaktion nach Nencki und Sieber die gleichzeitige Anwesenheit von Nitriten und Indolessigsäure im Harn nötig ist, nachdem Steensma schon gelegentlich auf die Rotfärbung nitrithaltiger Harne mit Salzsäure hingewiesen und Salkowski[3]) die Möglichkeit betont hatte, dass das Urorosein ein aus der Indolessigsäure stammender Farbstoff sei.

Da nach diesen Beobachtungen angenommen werden darf, dass als Urorosein der durch Einwirkung von Nitriten und Salzsäure auf Indolessigsäure entstehende rote Farbstoff zu bezeichnen ist, hat Riesser diesen Farbstoff näher untersucht.

Nach den leider nicht ganz eindeutigen Resultaten von Riesser[4]) — der Farbstoff konnte bisher nicht krystallisiert erhalten werden — ist das Urorosein wahrscheinlich als ein Trinidylmethanfarbstoff aufzufassen, dessen Leucoverbindung die Formel

$$C_8H_6N.CH\begin{cases} C_8H_5N.CH_2.COOH \\ C_8H_5N.CH_2.COOH \end{cases}$$

zukommt. Andere Oxydationsmittel wie Eisenchlorid scheinen beim

[1]) M. Nencki und N. Sieber. Journ. f. prakt. Ch. [2] **26**. 333. 1882.

[2]) H. Rosin, Deutsche med. Wochenschr. 1893. 51.

[3]) C. A. Herter, Journ. of biol. chem. **4**. 239 u. 253. 1908. — E. H. Steensma, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1904. II. 425, zitiert nach Jahresber, f. Tierch. **34**. 421. — E. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Ch. **42**. 216. 1904.

[4]) O. Riesser, Zur Chemie des Uroroseins. Königsberger Inaug.-Diss. Berlin 1911.

Digitized by Google

Erwärmen zur Bildung des gleichen Farbstoffes zu führen, wobei dann aber mehr Nebenprodukte entstehen.

A. Vorkommen. Das Urorosein kommt nach Nencki und Sieber nicht als solches, sondern als Chromogen im Harn vor, und entsteht aus diesem erst nach Zusatz einer Mineralsäure, nach Rosin unter gleichzeitiger Oxydation, in kurzer Zeit. Es findet sich nach Rosin in geringer Menge in jedem normalen Harn, nach Garrod und Hopkins nur manchmal, ferner nach Rosin reichlicher namentlich bei Konsumptionskrankheiten, nach Garrod[1]) oft auch im Harn Chlorotischer. Bei Pflanzenkost tritt es in grösserer Menge auf als bei Fleischkost (R), sehr viel enthält der Harn der Pferde und noch viel mehr der der Rinder (R).

Nencki und Sieber vermissten es im normalen Harn, wiesen es aber nach bei Diabetes, Chlorose, Osteomalacie, Nephritis, Typhus, Carcinoma oesophagi, Ulcus ventriculi, Perityphlitis, und Rosin in vermehrter Menge bei Carcinom der verschiedensten Organe, bei Magenerweiterung und anderen erheblicheren Magenerkrankungen, perniziöser Anämie, selten bei hochgradiger einfacher Chlorose, bei Typhus im späten Stadium und bei hochgradiger Lungentuberkulose. Wechselmann bestätigte im wesentlichen die Befunde von Rosin. — Einen Farbstoff von denselben Löslichkeitsverhältnissen haben Brandl und Pfeiffer[2]) in einem melanotischen Harn aufgefunden; er unterschied sich aber dadurch vom Urorosein, dass er Eisen enthielt und ein anderes Spektrum darbot (einmal den Urobilinstreifen, weil er mit Urobilin verunreinigt war und einmal zwei Streifen, deren Dunkelheitsmaximum nach der Bestimmung von G. Krüss bei γ 586,1 und bei γ 535,6 lagen).

Zu diesen Angaben über das Auftreten der Urorosein-Reaktion ist, abgesehen von dem erwähnten Einwande gegen die Untersuchungen von Rosin, die auch für die Arbeit von Wechselmann gelten, folgendes zu bemerken: Das prompte Auftreten der Uroroseinreaktion ist der Ausdruck des gleichzeitigen Vorkommens von Indolessigsäure und Nitriten (vielleicht auch anderer oxydierenden Substanzen) im Harn. Durch einen Überschuss von Nitriten im Vergleich zu der vorhandenen Menge Indolessigsäure kann die Reaktion gestört werden. Die Frage nach der Bedeutung der Urorosein-Reaktion läuft also auf die andere ebenfalls noch nicht klar zu beantwortende Frage hinaus: Unter welchen Bedingungen kommen Nitrite und Indolessigsäure im Harn vor (s. S. 148 und S. 863)? Dabei ist besonders zu beachten, ob die Reaktion im frisch entleerten Harn zustande kommt oder erst nach längerem Stehen, während dessen Bakterien Gelegenheit gehabt haben aus Nitraten des Harns Nitrite zu bilden. Für den Ausfall der Reaktion in Harnen, die

[1]) Rosin, Virchows Archiv **123**. 556. 1891. — Garrod und Hopkins, Journ. of Physiol. **20**. 135. 1896. — Garrod, Edinburgh med. Journ., Aug. 1897. 116.
[2]) A. Wechselmann, Beiträge zur Kenntnis des Uroroseins und seines klinischen Verhaltens. Inaug.-Diss. Berlin 1906. — J. Brandl und L. Pfeiffer, Zeitschr. f. Biol. **26**. 375. 1890.

Digitized by Google

gestanden haben, muss natürlich der Nitratgehalt des Harns bzw. der Nahrung (Pflanzenkost s. Rosin) von Einfluss sein. Dass in einem frischen Harn die Uroroseinreaktion nach Nenckis Vorschrift positiv ausfällt, ist bisher nicht erwiesen. Es ist sehr wohl denkbar, dass durch bestimmte bakterielle Zersetzungen im Darm eine gleichzeitige Bildung und Ausscheidung von Indolessigsäure und Nitriten herbeigeführt werden kann, so wie die gleichzeitige Bildung von Indol und Nitriten durch den Choleraerreger bekannt ist. Eine solche diagnostische Verwertung der Uroroseinreaktion wäre noch festzustellen.

B. Eigenschaften. 1. Das Urorosein löst sich in mässigem Grade mit roter Farbe in Wasser und verdünnten Säuren, leicht in Äthyl- und Amylalkohol sowie in Eisessig, schwer in Essigäther; Äther, Chloroform, Benzol, Schwefelkohlenstoff nehmen es aus seinen wässerigen Lösungen nicht auf, wohl aber Amylalkohol. Die Lösungen färben Wolle. Aus den wässerigen Lösungen lässt sich der Farbstoff aussalzen (Riesser).

2. Die alkoholische Lösung weist einen schmalen, aber scharf begrenzten Absorptionsstreifen bei λ 557 (D 48 E) auf.

In konzentrierten Lösungen lässt der Farbstoff nur Rot und Orange durch, absorbiert das Licht also ähnlich wie Indigrot; beim Verdünnen der Uroroseinlösung verschwindet aber die Verdunkelung des violetten Endes des Spektrums, und es bleibt dann der schmale Streifen in Grün übrig, während das Indigrot-Spektrum beim Verdünnen der Lösung im ganzen blasser wird und kein isoliertes Band zurücklässt.

Fuchsin zeigt bei starker Verdünnung dieselbe Farbennuance, doch liegt der Absorptionsstreifen mehr nach Violett. Käufliche Fuchsin-Sulfosäure weist in alkoholischer Lösung genau den gleichen Streifen auf, wie das Urorosein, obwohl beide Farbstoffe nicht identisch sind.

3. Ammoniak, die fixen Alkalihydrate und die kohlensauren Alkalien lösen den Farbstoff unter Bildung gelb gefärbter Salze. Mineralsäuren machen den Farbstoff, ohne Mitwirkung von Oxydationsmitteln sofort wieder frei; organische Säuren zerlegen aber die Verbindung nicht.

Die ammoniakalischen Lösungen des Farbstoffes, aus denen das überschüssige Ammoniak vertrieben ist, geben mit Calcium, Barium und Kupfersalzen schwer lösliche Fällungen (Riesser).

4. Wird der salzsaure Farbstoff, wie er durch Einwirkung von Nitrit und konzentrierter Salzsäure erhalten wird, anhaltend mit Wasser gewaschen, so verliert er seine Salzsäure und nimmt eine kolloidale Beschaffenheit an.

Wahrscheinlich entsteht dabei aus dem Farbsalz durch Dissoziation eine Carbinolverbindung:

Digitized by Google

$$C_8H_6N . C\left\langle\begin{array}{l}C_8H_5N . CH_2 . COOH \\ C_8H_5N . CH_2 . COOH\end{array}\right., HCl + H_2O \rightleftarrows$$

$$C_8H_6N . C . (OH)\left\langle\begin{array}{l}C_8H_5N . CH_2 . COOH \\ C_8H_5N . CH_2 . COOH\end{array}\right. + HCl$$

(Riesser).

5. Durch Einleiten von gasförmiger Salzsäure in die alkoholische Lösung des Farbstoffes entsteht ein Ester, der in Alkalien unlöslich ist. Die Analyse des durch Eingiessen der salzsauren alkoholischen Lösung in wässeriges Ammoniak gefällten Esters gibt Zahlen, die annähernd auf die Verbindung

$$\begin{array}{l}C_8H_6N . C\left\langle\begin{array}{l}C_8H_5N . CH_2 . CO_2 . C_2H_5 \\ C_8H_5N . CH_2 . CO_2 . C_2H_5\end{array}\right. \\ \qquad\quad\;\; | \\ \qquad\quad OH\end{array}$$

stimmen (Riesser).

6. Durch Reduktion mit Zink oder Zinkstaub in saurer Lösung wird der Farbstoff schnell entfärbt. Die entstehende Leucoverbindung geht leicht in Äther (Riesser). Die ätherischen Lösungen ebenso wie die farblosen sauren Filtrate vom Zink färben sich schnell an der Luft wieder rot.

7. Ein Überschuss des Oxydationsmittels (Nitrit) zerstört den Farbstoff. Wahrscheinlich beruht auf dieser Tatsache die Angabe von Nencki und Sieber, dass der Farbstoff sehr unbeständig sei, wenn die Reaktion im Harn selbst angestellt wird (Herter, Riesser).

8. Bei der Spaltung von neutralen Uroroseinlösungen (Farbstoff mit Alkali neutralisiert) mit viel Wasser im Autoklaven bei 220° erhielt Riesser Indol und β-Indolaldehyd.

C. Darstellung. Nach Nencki und Sieber werden 50—100 ccm Harn mit 5—12 ccm 25%iger Schwefelsäure oder auch Salzsäure versetzt. Bei Gegenwart des Farbstoffes nimmt der Harn in einigen Minuten eine rötliche bis schön rosenrote Färbung an. Der Harn wird dann mit einigen ccm Amylalkohol nur wenig und gelinde geschüttelt, so dass sich keine Emulsion von Amylalkohol und Harn bildet und der Alkohol abgehoben. Die Scheidung des Amylalkohols erreicht man auch leicht, wenn man die Emulsion auf ein mit Amylalkohol befeuchtetes Filter bringt (Huppert).

Konzentriertere Lösungen erhält man in folgender Weise: Es werden 1—3 Liter uroroseinhaltiger Harn auf flachen Schalen im Wasserbad schnell auf die Hälfte eingedampft, die Flüssigkeit, nachdem sie auf etwa

Digitized by Google

30° erkaltet ist, mit Salzsäure oder verdünnter Schwefelsäure angesäuert, in den Harn entfettete Schafwolle gelegt und die Flüssigkeit mit essigsaurem Natron im Überschuss versetzt, wonach der Farbstoff von der Wolle fixiert wird. Die sorgfältig mit Wasser gewaschene Wolle wird an der Luft getrocknet und mit absolutem Alkohol, dem etwas Schwefelsäure zugesetzt ist, ausgekocht. Die so gewonnenen Lösungen sind verhältnismässig die reinsten und auch die haltbarsten; sie verblassen zwar auch allmählich, zeigen aber selbst noch nach Wochen den Absorptionsstreifen.

Nach Rosin soll sich auf folgende Weise das Chromogen des Uroroseins darstellen lassen:

Pferde- oder besser Rinderharn wird nach Rosin mit Bleizucker in Substanz gesättigt und das Filtrat mit Ammoniak im Überschuss versetzt, wobei das Chromogen grossenteils, aber nicht vollständig, gefällt wird. Die beiden Bleiniederschläge werden nach dem Trocknen bei ungefähr 70° so oft mit Alkohol ausgezogen, als die Lösung auf Zusatz von Salzsäure und einer Spur Chlor (Chlorkalk oder Chlorwasser) noch rot wird. Die alkoholischen Auszüge werden mit Schwefelwasserstoff vom Blei befreit, im Wasserbad konzentriert und dann fraktioniert mit Äther gefällt, wobei sich Salze, ein gelber Farbstoff in öligen Tropfen und ein in Chloroform löslicher, harzartiger Körper abscheiden. In Lösung befinden sich dann noch neben dem Chromogen und etwas gelbem Farbstoff Phenole, die sich durch Extraktion der zur Trockne gebrachten Substanz mit Äther entfernen lassen. Die rückständige Substanz wird dann in möglichst wenig Alkohol gelöst und mit dem 8—10fachen Volumen Äther versetzt, worauf das Chromogen auskrystallisiert. Durch mehrfaches Umkrystallisieren lässt es sich rein erhalten.

Nach den Löslichkeitsverhältnissen kann das beschriebene Chromogen weder mit Indolessigsäure, noch mit der Leucoverbindung des Uroroseins, für deren Vorkommen im Harn bisher keine Anhaltspunkte vorhanden sind, identisch sein. Man muss deshalb wohl annehmen, dass den von Rosin isolierten Krystallen etwas Indolessigsäure oder etwas von dem Chromogen des Skatolrots angehaftet habe. —

Nach Garrod und Hopkins wird das Chromogen (Indolessigsäure?) auch beim Sättigen des Harns mit Ammonsulfat grossenteils gefällt. Der alkoholische Auszug des Niederschlages wird durch Säure rot und zeigt dann neben dem Uroroseinstreifen ein schwaches Urobilinband. Eine Trennung des Chromogens lässt sich bewerkstelligen, wenn man in dem Harn nur so viel Ammonsulfat löst, bis Trübung eintritt; diese rührt von dem Chromogen her, das Urobilin bleibt in der Lösung.

Auch hier ist eine Verwechslung mit dem Chromogen des Skatolrots nicht ausgeschlossen.

Über die Darstellung von Indolessigsäure aus Harn s. S. 866.

D. Nachweis. Um Verwirrungen in den Angaben über rote Harnfarbstoffe vorzubeugen, sollte der Name Uroroseinreaktion der Reaktion, wie sie Nencki und Sieber angegeben haben (s. C.), vorbehalten bleiben und stets darauf geachtet werden, ob der Harn frisch oder erst nach dem Stehen die Färbung gibt.

Die spektroskopische Untersuchung ist unerlässlich, namentlich um Verwechslungen mit dem sehr ähnlichen Skatolrot zu vermeiden.

Digitized by Google

Die Unterscheidung vom Indigrot ist S. 885 besprochen.

Setzt man dem Harn ausser der Säure ein Oxydationsmittel zu, wie es bei den verschiedenen Indicanreaktionen der Fall ist (s. S. 805 ff.), so wird ein Gehalt von Indolessigsäure sich durch Bildung von Urorosein bemerklich machen.

Skatolrot.

Eine systematische Beschreibung des Skatolfarbstoffes und seines Chromogens ist zurzeit trotz der zahlreichen Arbeiten über den Gegenstand noch unmöglich, weil in den älteren Versuchen (Brieger, Mester, s. S. 814) Verwechslungen mit Indigorot, in den späteren solche mit Urorosein nicht ausgeschlossen waren. Es seien deshalb hier nur die Arbeiten angeführt und einige noch unvollständige eigene Erfahrungen mitgeteilt. (Untersucht wurde das Skatolrot in den letzten Jahren von Roessler, Stokvis, Porcher und Hervieux, Grosser und Staal[1].) Aus ihren Beobachtungen geht die grosse Ähnlichkeit des Skatolrots mit dem Urorosein hervor. Porcher und Hervieux erklären beide Farbstoffe sogar für identisch, was sich wohl nur dadurch erklären lässt, dass ihre Arbeit vor der Publikation Herters über Urorosein liegt, und dass sie nicht selbst Urorosein zum Vergleich in Händen hatten.

Gibt man einem Kaninchen, dessen Harn mit Zusatz von konzentrierter Salzsäure oder Obermeyerschem Reagens keine oder nur minimale Rotfärbung zeigt, einige Dezigramme Skatol ein, so färbt sich der Harn nach der Skatolfütterung mit beiden Reagentien, namentlich dem Obermeyerschen, intensiv rot, und nach einiger Zeit setzen sich dunkelrote Flocken ab.

Von den üblichen Ausschüttelungsmitteln nimmt nur Amylalkohol den roten Farbstoff in beträchtlicher Menge auf, in geringem Masse auch Essigäther; Chloroform und Äther bleiben fast ungefärbt. Der ausgefällte Farbstoff, der sich besser und vollständiger durch Salzsäure mit vorsichtigem Zusatz von 2%iger Nitritlösung abscheiden lässt, löst sich leicht auch in Alkohol, Eisessig und Aceton.

Der alkoholische Auszug oder die amylalkoholische Ausschüttelungsflüssigkeit geben einen scharf begrenzten Spektralstreifen zwischen der D- und E-Linie, dessen Lage Porcher und Hervieux zwischen

[1]) C. Roessler, Zentralbl. f. inn. Med. **22**. 847. 1901. — B. J. Stokvis, Handelingen van het 8 Nederl. Natuur- en Geneesk. Congres 1901. 249, zitiert nach Jahresb. f. Tierch. **31**. 445. — P. Grosser, Zeitschr. f. physiol. Ch. **45**. 321. 1905. — Ch. Porcher et Ch. Hervieux, Compt. rend. Acad. Scienc. **138**. 1723. 1904 und Zeitschr. f. physiol. Ch. **45**. 486. 1905. — J. Ph. Staal, ebenda **46**. 236. 1905.

Digitized by Google

λ 577 und 550 beschrieben haben. Ein Vergleich mit dem Uroroseinstreifen ergibt, dass der Skatolrotstreifen näher der D-Linie liegt.

Gegen Alkalien und gegen Reduktionsmittel verhält sich der Skatolfarbstoff genau wie das Urorosein. Als Unterscheidungsmerkmale sind bisher also nur anzuführen das spektroskopische Verhalten und die viel grössere Löslichkeit des Uroroseins in Wasser und Säuren.

Eines genaueren Studiums bedarf noch die von Jaffé (Privatmitteilung) gemachte Beobachtung, dass der, wie beschrieben, aus dem Harn gefällte rote Farbstoff schwefelhaltig ist. Nach Beobachtungen von Riesser und mir verliert der Farbstoff beim Umfällen aus ammoniakalischer Lösung mit Salzsäure Schwefelsäure. Löst man den Farbstoff in Ammoniak und fällt mit Salzsäure aus, so lässt sich in dem wenig gefärbten salzsauren Filtrat mit Chlorbarium Schwefelsäure nachweisen.

Der Farbstoff geht beim Stehen der Lösungen unter noch zu ermittelnden Einflüssen leicht in eine braune Substanz über, die den Spektralstreifen nicht mehr gibt.

Ob das Chromogen des Skatolfarbstoffes ein Bestandteil des normalen Menschen- und Tierharns ist, ist bisher wegen der schwierigen Unterscheidung kleiner Mengen von Urorosein und Skatolrot noch nicht festgestellt.

Farbstoffe unbekannter Abstammung.

Uroerythrin.

Der von Prout als rosige Säure, von Golding Bird als Purpurin bezeichnete Farbstoff der ziegelroten Uratsedimente ist von F. Simon zuerst Uroerythrin benannt worden. Die Kenntnis seiner Eigenschaften ist nach den dürftigen älteren, namentlich von Heller herrührenden Untersuchungen in neuerer Zeit namentlich von Zoja, von Riva und von A. Garrod [1]) erheblich erweitert worden.

A. Vorkommen. Das Uroerythrin ist ein sehr gewöhnlicher Harnbestandteil, es findet sich ungemein oft in normalen Harnen gelöst in geringer Menge; in vielen, namentlich fieberhaften Krankheiten und bei Erkrankungen der Leber kann es beträchtlich vermehrt sein.

Es findet sich auch in blassen Harnen; diese zeigen dann in dicker Schicht einen Stich ins Rote. Im Harnsediment Gesunder, mit Ausnahme der Kinder, findet es sich häufig (Garrod) [2]). Unter normalen Verhältnissen tritt es in

[1]) F. Simon, Handb. d. angewandt. med. Ch. 1. 342. 1840. — Heller, dessen Archiv [2] 3. 361. 1854 (letzte Angaben). — L. Zoja, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1892. 705; Archives ital. de Biol. 19. fasc. 3. 1893; Archivio ital. di clinica medica Anno 32. 1893. — A. Riva, Gaz. med. di Torino, Anno 43. Nr. 1 u. 47. 1892; Clinica medica di Torino, Estratto dall' Opera le Scuole italiane di clinica medica 1894. — Archibald E. Garrod, Journ. of Physiol. 17. 439. 1895.

[2]) Garrod, Edinburgh med. Journ., Aug. 1897. 114.

Digitized by Google

grösserer Menge auf nach starker Muskeltätigkeit, nach reichlichem Schweiss. Selbst sehr geringfügige Verdauungsstörungen steigern seine Menge. Unmässigkeit im Genuss von Speisen und alkoholischen Getränken haben eine beträchtliche Vermehrung im Gefolge.

Unter pathologischen Verhältnissen ist das Uroerythrin vermehrt bei Krankheiten, in welchen eine Zirkulationsstörung der Leber stattfindet (Zoja), so bei Erkrankungen der Leber selbst (Schwellung und Zunahme der Konsistenz der Leber, Cirrhosis nach Alkoholmissbrauch und nach Malaria, Neubildungen), oder bei Herzfehlern und Lungenaffektionen (Pneumonie, Pleuritis), beim Bestehen von Unterleibstumoren; im Zusammenhang damit steht die Abnahme des Uroerythrins nach der Paracentese bei Ascites. In grösserer Menge erscheint es ferner bei akutem Gelenkrheumatismus, Influenza, Gicht, nach Hirnhämorrhagien (Riva). In nicht mit Lungenerkrankungen komplizierten Fällen von Typhus findet sich nur wenig (Riva, Zoja). Bemerkenswert ist die starke Abnahme und selbst das völlige Verschwinden desselben bei Lebercirrhose unter Milchdiät (Riva, Zoja). In einem Falle von Hämoglobinurie sah Riva nach dem Verschwinden des Hämoglobins viel Uroerythrin auftreten. Bei Nephritis kommt es fast nie vor.

Neben viel Uroerythrin findet sich gewöhnlich auch viel Urobilin vor Riva).

B. Eigenschaften. 1. Das isolierte Uroerythrin ist in trocknem Zustand amorph, ziegel- oder krebsrot, von etwas anderem Tone als die roten Uratsedimente; sehr reines zeigt nach Garrod rosenrote Farbe. Es besitzt ein sehr starkes Färbungsvermögen und man erhält deshalb aus Sedimenten nur wenig. Es besitzt, selbst in der Wärme, nur einen schwachen Geruch (Garrod). Beim Verbrennen hinterlässt es keine Asche, auch kein Eisen (Garrod).

Aus Chloroform scheidet sich der Farbstoff nach Riva beim Verdunsten mit Andeutungen von krystallinischer Beschaffenheit ab, aber bei langsamem Verdunsten der alkoholischen Lösung an der Luft erhielt Garrod kleine runde Körnchen, welche keine Spur einer krystallinischen Struktur besassen.

2. Es löst sich am besten in Amylalkohol (Riva, Zoja), nicht viel schlechter in Essigäther (Garrod), weniger in absolutem Alkohol und in Chloroform, in geringer Menge in Wasser. Verdünnter Alkohol löst es besser als Wasser, aber schlechter als starker Alkohol. Äther löst es auch, aber schlechter als Alkohol, und der Farbstoff zersetzt sich in der Lösung leicht, selbst im Dunklen. Eine Spur Säure erhöht die Löslichkeit selbst in solchen Lösungsmitteln, welche den Farbstoff leicht aufnehmen (Garrod).

Sättigen einer Lösung mit Ammonsulfat oder Chlorammon in Gegenwart von harnsauren Salzen (Harn) schlägt den Farbstoff in Verbindung mit dem Ammonurat nieder (Garrod [1])). Aus Lösungen, welche Erdalkaliphosphate enthalten (Harn), wird es auf Zusatz von Alkalihydrat mit diesen, aber in verändertem Zustande (grün) abgeschieden.

3. Die Lösungen besitzen je nach dem Gehalt an Farbstoff eine goldorange bis feuerrote Farbe; verdünnte Lösungen weisen nach

[1]) Garrod, Proceedings of the Roy. Soc. 55. 398. 1894 und Journ. of Physiol. 17. 443.

Digitized by Google

Garrod auch einen schwachen Stich in Blau auf. Sie zeigen keine Fluorescenz, nach Garrod auch nicht im Lichte einer Geisslerschen Röhre, und nehmen auch, zum Unterschied von Urobilin, auf Zusatz von ammoniakalischer Zinklösung keine Fluorescenz an (Riva, Zoja). Die Lösungen der reinen Substanz sind neutral oder eher etwas sauer (Garrod).

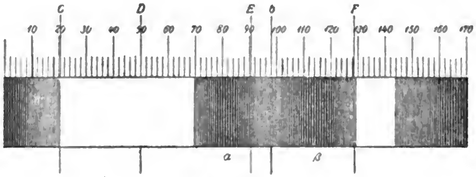


Fig. 41.
Spectrum des Uroerythrins.

4. Spektrum. Eine sehr konzentrierte Lösung absorbiert das ganze brechbare Ende des Spektrums, die Absorption hört ziemlich scharf bei λ 552 (D 56 E) auf (Garrod). In verdünnteren Lösungen erscheint ein von Mac Munn[1]) entdecktes doppelbandiges Spektrum. Von den beiden Streifen hat nach Zoja α ungefähr die Lage λ 550 — λ 525, β die Lage λ 510 — 484, nach Garrod kommt ihnen die Stellung λ 546 — λ 520 und λ 506 — λ 481 zu (D 70 E — E 13 F und E 44 F — F 9 G). Die Ränder sind stark verwaschen und die Grenzen deshalb nicht scharf zu bestimmen. Beide Bänder sind durch einen Schatten miteinander verbunden. Das rechte Band ist etwas dunkler als das linke. — Spektren der Verbindungen und der Zersetzungsprodukte bei diesen (5, 7, 8).

Bei einigermassen konzentrierten Lösungen reicht die allgemeine Verdunkelung des violetten Endes des Spektrums bis zum rechten Rande von β. Der Streifen β fällt nahezu zusammen mit γ des Urobilins und δ des alkalischen Hämatoporphyrins. Mit der Konzentration der Lösungen werden die Streifen zwar dunkler, jedoch nicht breiter (Riva), aber auch die dunkelste Stelle der Streifen ist nicht schwarz (Garrod), wie beim Urobilin. Andere Absorptionsstreifen rühren von fremden Farbstoffen her.

5. Verbindungen. Das Uratsediment enthält das Uroerythrin in chemischer Verbindung mit Harnsäure, was, wie Garrod zeigt, daraus hervorgeht, dass es ein anderes Spektrum besitzt als das freie oder das gelöste Uroerythrin. Es ist nur ein einziger, am rechten Rande verwaschener Absorptionsstreifen, und zwar bei λ 589 — λ 543 (D — D 70 E) vorhanden.

[1]) Mac Munn, Proceed. of the Roy. Soc. 35. 399. 1883.

Digitized by Google

Man sieht dieses Band im reflektierten Licht, sowie im durchfallenden, wenn man das auf geöltem Papier befindliche Sediment untersucht. Das Band ist weder an freiem, mit einem weissen Pulver gemischten Uroerythrin im auffallenden, noch an dem auf eine Glastafel aufgetragenen Uroerythrin im durchfallenden Licht wahrnehmbar. — Die Lösung des Uratsedimentes in heissem Wasser bietet dagegen wie der Harn direkt das Spektrum des freien Farbstoffes dar (Riva, Zoja). Das mit Wasser gewaschene (ungelöste) Sediment gibt an absoluten Alkohol, an Amylalkohol, Äther, Chloroform kein Uroerythrin ab (Riva); mit einer Spur Säure versetzter, verdünnter Alkohol zieht aber Farbstoff aus (Zoja).

Die Ammonsalze (Chlorid, Sulfat), welche beim Sättigen des Harns mit denselben die Harnsäure fällen, schlagen auch vorhandenes Uroerythrin mit nieder. Wiewohl das Uroerythrin aus dem Harn durch Bleiacetat sowie durch Chlorbarium gefällt wird, so sind doch keineswegs alle Niederschläge, welche Uratlösungen mit Metallsalzen geben, als Verbindungen des Farbstoffes mit den Metallen anzusehen.

Riva und Zoja haben die Wahrnehmung gemacht, dass eine amylalkoholische Uroerythrinlösung beim Schütteln mit Lösungen von Calcium-, Barium-, Blei- oder Zinnsalzen in verschiedener Nuance rote und so lichtbeständige Niederschläge geben, wie die Uratsedimente. Diese Niederschläge sind jedoch, nach Garrod, keine Verbindungen des Metalls mit dem Farbstoff, sondern nichts anderes, als die Urate selbst. Der amylalkoholische Auszug aus dem Sediment oder dem Harn enthält etwas Harnsäure und diese wird dann auf Zusatz der genannten Salze zugleich mit dem Farbstoff gefällt. Versetzt man nach Garrod eine alkoholische Lösung nach seinem Verfahren dargestellten (harnsäurefreien) Uroerythrins mit Chlorbarium, so entsteht ein schwach gefärbter Niederschlag von Chlorbarium, der sich auf Zusatz von Wasser wieder vollständig löst; ein Tropfen einer farblosen Uratlösung gibt jetzt einen schönen roten Niederschlag.

Versetzt man eine Lösung von Uroerythrin in absolutem Alkohol mit wenig Tropfen einer gesättigten Bleiacetatlösung, so entsteht ein spärlicher, flockiger, in Wasser unlöslicher Niederschlag von dunkel rosenroter Farbe. Eine im Licht gebleichte ebensolche Lösung gibt bei der gleichen Behandlung einen farblosen Niederschlag.

6. Das Uroerythrin ist ausgezeichnet durch seine ausserordentlich geringe Lichtbeständigkeit; die Lösungen bleichen sehr schnell in zerstreutem oder chemisch aktivem Licht und werden, wenn der Farbstoff rein ist, ganz farblos. Mit der Farbe verschwindet auch das Spektrum. Im Dunkeln oder im chemisch indifferenten Licht behalten die Lösungen ihre Farbe selbst einige Tage lang (Riva). Im trockenen Zustand und in seiner Verbindung mit Harnsäure ist das Uroerythrin viel haltbarer.

In den gebleichten Lösungen lässt sich die Färbung nach Zoja weder durch Reduktions-, noch durch Oxydationsmittel wieder herstellen. — In urobilinhaltigen Lösungen ist das Band β dunkler, als in reinen, und verschwindet α im Lichte, während ein Streifen von der Lage des Bandes β, Urobilin γ, übrig bleibt.

7. Das feste Uroerythrin wird durch Kalilauge sofort dunkelgrün und dann bald zerstört (Thudichum[1]), und ebenso verhalten sich die roten Uratsedimente und Lösungen des Uroerythrins. Die grün gewordene amylalkoholische Lösung zeigt kein Absorptions-

[1]) Thudichum, Journ. of the chem. Soc. [2] 13. 399. 1875.

Digitized by Google

spektrum; im Lichte wird sie entfärbt, aber nicht so schnell, wie die ursprüngliche Lösung. Gegen Ammoniak ist es viel beständiger.

Wie die Kalilauge verhalten sich auch die Natronlauge und, nach Riva, alle alkalisch reagierenden Salze, mit Ausnahme des Ammoniaks. Eine mit Ammoniak versetzte Lösung behält in chemisch indifferentem Licht ihre rote Farbe viele Tage lang. Neutralisiert man die grüne Lösung, so wird sie nicht wieder rot. — Der schmutzig grüne Phosphatniederschlag, den man auf Zusatz von viel Lauge zu einem an Uroerythrin reichen Harn erhält, bewahrt seine Farbe stundenlang unter der Flüssigkeit.

Manchmal wird eine Uroerythrinlösung auf Zusatz von Lauge violett, dann indigblau, grün und darauf schnell farblos; die farbigen Lösungen zeigen Absorptionsstreifen. Riva, welcher diese Erscheinung zuerst beobachtet hat, vermutet, dass es sich um Varietäten des Farbstoffes handelt. Da aber in den früheren Stadien Ansäuern mit Essigsäure das ursprüngliche Spektrum wiederherstellt, so könnten nach Garrod auch Verbindungen des Farbstoffes mit Alkali vorliegen. Der Farbenwechsel dauert nur einen Teil einer Minute. In einem früheren Stadium ist ein Band bei γ 672 — γ 642,5 (auf C im äussersten Ende des Rot) zu sehen, die violette Lösung bietet zwei, denen des Indigos ähnliche Bänder dar. An der grünen Lösung ist das violette Ende des Spektrums verdunkelt.

Setzt man zu einer amylalkoholischen Lösung wenig Natronlauge, so scheidet sich nach Garrod zwar viel von dem grünen Produkt ab, der Alkohol behält aber doch noch eine rein grüne Färbung. Behandelt man den Abdampfungsrückstand des Alkohols mit Schwefelsäure oder Salzsäure, so erhält man eine carminrote Lösung, von denen die schwefelsaure ein Band bei λ 582,5 — λ 549 (D 10 E—D 63 E) aufweist, die salzsaure ein Band bei λ 608 — λ 549 (C 69 D bis D 63 E) aufweist. In beiden Fällen wird die Lösung beim Verdünnen mit Alkohol grün, auf Zusatz von viel Säure carminrot, und aus dieser Lösung nimmt Chloroform grünen Farbstoff auf.

8. Säuren erteilen einer Uroerythrinlösung eine andere Farbe und zerstören es zuletzt.

Die Farbenänderung tritt nach Garrod nicht immer auf, manchmal wird das Uroerythrin gleich zersetzt. Nach Heller löst es sich in konzentrierter Schwefelsäure mit dunkelroter Farbe; gegen konzentrierte Salzsäure verhält es sich ähnlich.

Nach Garrod wird eine Uroerythrinlösung durch konzentrierte Schwefelsäure prachtvoll carminrot, Chloroform nimmt viel von diesem Farbstoff auf und die Lösung zeigt dann ein dunkles Band bei λ 586 — λ 552 (C 95 D—D 58 E), ähnlich dem des Sediments, und manchmal noch ein zweites, schwächeres in Grün. Beim Verdünnen dieser Lösung mit Alkohol tritt die ursprüngliche Farbe und das ursprüngliche Spektrum wieder auf. — Salzsäure macht eine Lösung des Uroerythrins rosenrot, die konzentrierte Lösung zeigt ein schlecht begrenztes Band ungefähr bei λ 608 — λ 517 (C 62 D—E 23 F). Der rote Farbstoff wird von Chloroform aufgenommen, der Abdampfungsrückstand löst sich in Alkohol mit Farbe und Spektrum der ursprünglichen Substanz. — Phosphorsäure färbt Uroerythrinlösung lachsrot, Chloroform nimmt den Farbstoff auf; beim Verdünnen treten Farbe und Spektrum des Uroerythrins auf, aber das Spektrum ist sehr deutlich nach Rot verschoben und das blaue Ende des Spektrums viel weniger dunkel. — Die Lösungen werden grün und zuletzt farblos, die Reaktionen gelingen nicht immer.

Die Säuren zersetzen das Uroerythrin verschieden leicht, Schwefelsäure und Salzsäure leichter als Phosphorsäure (Garrod), Essigsäure schlechter als eine Mineralsäure, Weinsäure und Zitronensäure langsamer als Essigsäure; bei Gegenwart der organischen Säuren bleibt eine Uroerythrinlösung in chemisch

Digitized by Google

inaktivem Licht oder im Dunklen selbst tagelang unverändert (Riva). Gewöhnliches Licht beschleunigt die Zersetzung.

9 In ätherischer Lösung zersetzt sich das Uroerythrin leicht (Riva). Verdunstet man eine Chloroformlösung auf dem Wasserbade, so löst sich der Rückstand kaum, wenn überhaupt, wieder in Alkohol; beim Verdunsten des Chloroforms in gelinderer Wärme wird jedoch das Uroerythrin unverändert wieder gewonnen.

10. Durch Oxydations- und Reduktionsmittel wird das Uroerythrin nach Garrod entfärbt, auch im Dunklen.

Salpetersäure entfärbt fast augenblicklich, Wasserstoffsuperoxyd langsamer, schnell aber in Wasserbadwärme. Von den Reduktionsmitteln wirkt Zink und Salzsäure am schnellsten.

11. Ein Chromogen des Uroerythrins kommt im Harn nicht vor (Zoja). — Die von Mester[1]) ausgesprochene Vermutung, dass das Uroerythrin ein Skatolfarbstoff sein könne, findet in den seither näher bekannt gewordenen Eigenschaften des Uroerythrins keine Stütze.

C. Darstellung. Bei der Darstellung geht man am besten von dem roten Uratsediment aus, das sich aus stark abgekühltem Harn in grösseren Mengen absetzt, als bei gewöhnlicher Temperatur. Von den beiden in Verwendung gekommenen Verfahrungsweisen, der von Garrod und der von Zoja und Riva, liefert die von Garrod das reinere Präparat.

I. Nach Garrod. a) Das Sediment von mehreren Tagen wird auf einem Filter gesammelt, noch feucht vom Filter abgespritzt, dann, wenn nötig, noch unter Zusatz von Wasser in gelinder Wärme gelöst und die Lösung mit Chlorammonium gesättigt. Es schlägt sich alles Uroerythrin in Verbindung mit dem ausfallenden Ammonurat nieder. Der flockige Niederschlag wird abfiltriert, mit gesättigter Salmiaklösung vom Filter abgespült, wieder abfiltriert und das Verfahren so oft wiederholt, bis das Filtrat nicht mehr (von Urobilin) gelb gefärbt ist. Das Sediment besitzt jetzt eine reinere rosenrote Färbung als vorher, zeigt aber noch ein, der Verbindung von Hämatoporphyrin mit Metall angehöriges Absorptionsband bei D. Man lässt das Filter mit dem Niederschlag mehrere Stunden im Dunklen in warmem Alkohol liegen, wobei der Niederschlag leichter als das Sediment Uroerythrin an den Alkohol abgibt. Man filtriert, verdünnt den Alkohol mindestens mit dem doppelten Volumen Wasser und wäscht zur Entfernung der letzten Reste Hämatoporphyrin die Lösung so oft mit Chloroform, bis dieses sich nicht mehr färbt; ist die Lösung verdünnt genug, so nimmt dieses kein Uroerythrin auf. Setzt man jetzt einige Tropfen Essigsäure zu, so entzieht das Chloroform der Lösung das Uroerythrin schnell und vollständig. Das

[1]) R. Mester, Zeitschr. f. physiol. Ch. 12. 143. 1888.

Digitized by Google

Chloroform wird dann mit Wasser gewaschen und im Dunklen in gelinder Wärme (B. 9.) verdunstet; der Rückstand löst sich dann leicht in Alkohol. Das schnelle Verbleichen des Uroerythrins im Licht bietet ein Mittel, den Farbstoff auf seine Reinheit zu prüfen; die Lösung soll dann ganz farblos sein.

Es darf kein Sediment verwendet werden, das sich nach dem Gebrauch von Rheum oder Senna abgeschieden hat. — Um die Menge des Sedimentes zu vermehren, darf man dem Harn keine Essigsäure zusetzen, weil sich sonst das Uroerythrin beim Sättigen mit Salmiak nicht mit, sondern neben dem Ammonurat niederschlägt. — Beim Auflösen des Sediments darf man gerade nur so weit erwärmen, dass Lösung erfolgt, weil sich sonst das Uroerythrin nur schlecht in Alkohol löst. — 100 Teile Wasser lösen bei 10° 33, bei 20° 37 Teile Salmiak. — Beim Waschen der neutralen Flüssigkeit geht manchmal schon Uroerythrin in Lösung; meist ist eine zu geringe Verdünnung mit Wasser daran schuld.

b) Zur Darstellung lässt sich auch an Uroerythrin reicher Harn, aus dem sich kein Sediment abgesetzt hat, verwenden. Der Harn wird mit Salmiak gesättigt und mit dem Niederschlage verfahren, wie oben angegeben; aber das Produkt ist minder rein und namentlich mit Hämatoporphyrin verunreinigt. Bei der spontanen Abscheidung von Uratsedimenten bleibt das Hämatoporphyrin im Harn gelöst.

II. Zoja und Riva waschen das Uratsediment auf dem Filter mit eiskaltem Wasser, was sehr schlecht ausführbar ist, weil das Sediment schleimig aufquillt und das Filter bald ganz verstopft. Darauf befreien sie das Sediment vom fremden Farbstoff dadurch, dass sie es wenigstens unter Äthylalkohol einige Zeit liegen lassen. Nach Riva soll man es in derselben Weise auch mit Äther und Chloroform waschen. Es wird dann in warmem Wasser gelöst und die Lösung mit Amylalkohol geschüttelt (der durch fraktionierte Destillation gereinigt ist). Der Amylalkohol nimmt das Uroerythrin auf, und aus der wässerigen Lösung kann sich beim Erkalten farblose oder doch fast farblose Harnsäure krystallinisch abscheiden. Der Amylalkohol bildet mit der wässerigen Lösung eine Emulsion, aus welcher sich der Alkohol nur sehr langsam absetzt; eine Trennung beider Flüssigkeiten kann man aber nach Huppert's Erfahrung leicht bewerkstelligen, wenn man die Emulsion mit dem unvermeidlichen Teil wässeriger Lösung auf ein mit Amylalkohol benetztes Filter bringt; im Filtrat sammelt sich der Alkohol auf der wässerigen Lösung als völlig klare Schicht an. Der Amylalkohol wird dann im Dunklen oder in chemisch indifferentem Licht verdunstet. Das Präparat ist nicht rein, sondern, wie Garrod (B. 5.) gezeigt hat, noch mit Urat verunreinigt.

D. Nachweis. Im Uratsediment macht sich das Uroerythrin meist schon durch seine rote Farbe kenntlich. Färbt es sich in zweifelhaften Fällen auf Zusatz von Lauge nicht schmutzig grün, so kann man es nach C. II. behandeln.

Wenn das Sediment vor dem Auflösen in Wasser durch Behandeln mit Alkohol genügend gereinigt war, so wird sich das Uroerythrin in dem amylalkoholischen Auszug ohne besondere Schwierigkeit an seiner Farbe, seinem Spektrum und dem schnellen Verbleichen im Licht erkennen lassen.

Wichtiger ist der Nachweis des Uroerythrins im Harn selbst. An dem Farbstoff reicher Harn zeigt vor der Abscheidung eines Sediments eine eigentümliche matt orangerote Färbung, die man leicht wieder erkennt, wenn man sie einmal gesehen hat. Zum sicheren Nachweis des Uroerythrins dient das Spektrum des Harns und die Extraktion des Harns mit Amylalkohol.

Digitized by Google

Wenn der Harn reich an Uroerythrin ist, so kann er nach Riva in dicker Schicht das Spektrum des freien Uroerythrins darbieten. Von ausschlaggebender Bedeutung ist aber nur der Streifen α, oder ein Schatten an seiner Stelle, da ein Streifen in der Lage von β auch von Urobilin oder Hämatoporphyrin herrühren kann. Für diese Untersuchung genügt eine Schicht in der Dicke von 10—12 cm. Ein negativer Ausfall der Beobachtung beweist jedoch die Abwesenheit des Farbstoffes nicht.

Um das Uroerythrin aus dem Harn in Amylalkohol überzuführen, soll man nach Riva 300—500 ccm Harn mit 50—60 ccm Alkohol schütteln (C. II.), von Harnen, die reich an Uroerythrin sind, genügt auch eine geringere Menge. Saurer Harn lässt sich besser extrahieren als neutraler; ein Ansäuern des Harns mit Essigsäure ist trotzdem zu vermeiden, weil das Uroerythrin zerstört wird und auch eine grössere Menge Urobilin in Lösung geht. Man filtriert die Gallerte durch ein mit Amylalkohol benetztes Filter oder klärt durch wenig Äthylalkohol. Der Amylalkohol enthält nicht bloss das Uroerythrin, sondern auch Urobilin und Hämatoporphyrin, welche auf die Farbe, das Spektrum und die Lichtbeständigkeit der Lösung von Einfluss sind. Eine reine Orangefarbe macht die Gegenwart des Uroerythrins schon sehr wahrscheinlich. Bei der spektroskopischen Untersuchung ist daher auch nicht der Hauptwert auf die Gegenwart des ganzen Uroerythrinspektrums zu legen, sondern nur auf den Streifen α, da ein Band von der Lage des Streifens β vom Urobilin und Hämatoporphyrin herrühren kann. Ist α sichtbar und verschwindet dieses Band bei der Belichtung, so ist die Gegenwart des Uroerythrins erwiesen. Mit dem Verschwinden des Streifens α wird die Lösung blasser, braucht sich aber, wegen der Gegenwart der anderen Farbstoffe, nicht völlig zu entfärben. Eine Abscheidung des Uroerythrins durch Zusatz eines Erdalkali- oder Metallsalzes empfiehlt sich nicht, weil dabei auch das Hämatoporphyrin ausfällt.

Von anderen Mitteln ist noch die Abscheidung der Harnsäure durch Sättigen des Harns mit Chlorammon (C. I.) passend. Der Umstand, dass Harn mit viel Uroerythrin auf reichlichen Zusatz von Lauge einen schmutzig grünen Phosphatniederschlag gibt, eignet sich nicht zum Nachweis geringer Mengen des Farbstoffs.

Urohämatin von Harley.

Harley stellte aus Harn einen eisenhaltigen roten Körper dar, den er Urohämatin nannte. Normaler Harn wird unter fortwährender Entfernung der sich ausscheidenden Salze zum Sirup eingedunstet, der Rückstand mit Alkohol ausgezogen und die alkoholische Lösung bis zur Entfärbung mit Kalkmilch gekocht, wobei ein roter Niederschlag entsteht. Dieser wird mit Wasser und mit Alkohol gewaschen, mit Salzsäure zerlegt und mit Alkohol ausgezogen. Die alkoholische Lösung wird darauf mit dem gleichen Volumen Äther tüchtig geschüttelt, der Äther abgehoben, mit Wasser gewaschen und verdunstet; dabei bleibt eine dunkelrote Substanz zurück, die sich in Alkohol und in Äther mit roter Farbe löst und beim Verbrennen einen voluminösen Rückstand von Eisenoxyd lässt. Eine dieser ähnliche Substanz wurde auch aus den von Scherer[1]) aus Harn dargestellten Farbstoffen gewonnen.

Das Urohämatin löst sich nicht in Wasser oder in Neutralsalzlösungen, auch nicht in Säuren, aber in Alkohol, Äther, Chloroform und in ätzenden Alkalien.

Giacosas Farbstoff.

Giacosa[2]) hält den von ihm dargestellten Farbstoff für wenigstens verwandt mit dem Urohämatin von Harley. Er entsteht wie das Uromelanin von

[1]) G. Harley, Verhandl. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg **5**. 1. 1854. — Scherer, Ann. d. Ch. u. Pharm. **57**. 180.

[2]) P. Giacosa, Ann. di chim. e di farmac. [4] **3**. 201; Ber. d. chem. Gesellsch. **20**. Ref. 393. 1887; Jahresber. f. Tierch. 1886. 213.

Plósz, das Urorubin (Urrhodin), das Urorosein etc. durch Einwirkung von Säuren auf Harn. Von dem Uromelanin unterscheidet er sich durch seine Löslichkeitsverhältnisse, von dem Urorubin und dem Urorosein u. a. durch den Mangel von Absorptionsstreifen. Möglich ist es, dass der Amylalkohol bei seiner Bildung beteiligt ist (s. Uromelanin von Plosz).

Das Chromogen des Farbstoffes tritt regelmässig bei Mensch, Hund und Kaninchen im Harn auf; es kann durch Amylalkohol ausgeschüttelt und durch Bleiessig grösstenteils gefällt werden.

Der Farbstoff wird erhalten, wenn man den Harn mit Bleizucker ausfällt, das überschüssige Blei mit Schwefelwasserstoff, diesen durch Erwärmen entfernt und den Harn nach dem Erkalten mit 0,8 Volumen Salzsäure von 1,19 Dichte versetzt. Ist die Flüssigkeit in einigen Minuten rosenrot geworden, so wird sie mit dem gleichen Volumen Amylalkohol ausgeschüttelt, nach spätestens einer Stunde der rubinrote Amylalkohol abgehoben, mit Wasser säurefrei gewaschen, was nach v. Udránszky[1]) jedoch nicht vollständig gelingt, der Amylalkohol abdestilliert, der Rückstand mit warmem Wasser und zur Entfernung etwa vorhandenen Urobilins mit verdünntem Ammoniak gewaschen. Nach dem Trocknen wird der Farbstoff in wasser- und alkoholfreiem Äther gelöst, die Lösung verdunstet, der Rückstand mit Wasser und Ammoniak gewaschen, wieder in Äther gelöst und das Verfahren so oft als nötig wiederholt. Der in Äther unlösliche Teil löst sich in Alkohol und ist spektroskopisch von dem in Äther löslichen nicht zu unterscheiden.

Bei der Darstellung lässt sich weder die Salzsäue noch der Amylalkohol durch eine andere Substanz ersetzen. Lässt man den Amylalkohol länger als 1 Stunde über dem angesäuerten Harn stehen, so geht auch sich bildender brauner Farbstoff in den Alkohol über.

Der Farbstoff bildet eine braune, feste Masse, welche bei 100—120° schmilzt und über Schwefelsäure scheinbar krystallisiert. Seine Lösungen in Äther, in Alkohol und in Amylalkohol zeigen keinen Absorptionsstreifen. Die Lösungen in Äther und in Chloroform besitzen eine schön grüne Fluorescenz, die amylalkoholischen fluorescieren nur schwach, die alkoholischen gar nicht. Der Farbstoff enthielt 0,45% Asche, die fast nur aus Eisen bestand. Beim Kochen mit Salzsäure wird der Farbstoff zerstört.

Der Harnsäurefarbstoff von Kunkel.

Wie die beiden soeben beschriebenen Farbstoffe ist auch der Farbstoff, welcher der mit Salzsäure aus normalem Harn gefällten Harnsäure ihre braune Farbe erteilt, nach Kunkel[2]) eisenhaltig. Versetzt man den mit Salzsäure ausgefällten Harn mit einer Lösung von harnsaurem Natron, so fällt wieder durch den eisenhaltigen Farbstoff gefärbte Harnsäure aus. Der isolierte Farbstoff besitzt keine ausgezeichneten spektroskopischen Eigenschaften.

Wie Kunkel, fand auch Garrod[3]) die mit Salzsäure gefällte wie die von selbst ausgefallene Harnsäure in geringem Grade, die von selbst ausgefallene aber stärker eisenhaltig, als die mit Säure gefällte. Da dieser Farbstoff nur einen kleinen Teil der in der Harnsäure enthaltenen Farbstoffe ausmacht, so müsste er reich an Eisen sein. Für das Bestehen eines eisenhaltigen Farbstoffes spricht aber nur diese Tatsache.

Der von Leube beobachtete Farbstoff.

Aus dem pathologischen Harn, welcher an der Luft tiefdunkelviolett wurde, ging der Farbstoff nach Leube[4]) mit schön dunkelvioletter Farbe in Äther über.

[1]) v. Udránszky, Zeitschr. f. physiol. Ch. **11**. 548. 1887.

[2]) Kunkel, Sitzungsber. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg 1881. 69; Jahresber. f. Tierch. **21**. 246.

[3]) Archibald E. Garrod, Journ. of Pathol. and Bacteriol., November 1894. 104.

[4]) W. Leube, Virchows Archiv **106**. 418. 1886.

Digitized by Google

Beim Verdunsten des Äthers blieb der Farbstoff in schwarzen, harzigen Flocken zurück. Heisses Wasser löste den Rückstand zum grossen Teil; in Äther, Benzol, Chloroform, Alkohol löste er sich mit der ursprünglichen Farbe; die Lösungen zeigten keine Fluorescenz. Nach der weiteren Untersuchung von E. Fischer wurde der Farbstoff in der ätherischen Lösung durch verdünnte Säuren nicht verändert, auch nicht dem Lösungsmittel entzogen. Verdünntes Alkali nahm ihn dagegen auf. Die Lösung war anfangs braunrot, wurde aber bei einigem Stehen gelb. Konzentrierte Schwefelsäure zerstörte den Farbstoff sofort; kalte konzentrierte Salzsäure löste ihn anscheinend ohne Veränderung, beim Erhitzen entfärbte sich aber die Lösung. Die alkoholische Lösung wurde durch Zinkstaub entfärbt und an der Luft wieder violett; dasselbe war der Fall, wenn die mit Zinkstaub versetzte alkoholische Lösung mit Essigsäure schwach angesäuert wurde. Vor dem Spektroskop zeigte auch die konzentrierte ätherische Lösung nur eine ganz schwache, diffuse Auslöschung von E bis gegen G. — Durch seine Löslichkeit in Alkali und sein spektroskopisches Verhalten unterscheidet sich der Farbstoff von Indigrot.

Der von Thormählen beobachtete Farbstoff.

Der von Thormählen[1]) untersuchte Harn stammte von einer an Leber- und Milztumor leidenden Frau. Er war bei saurer Reaktion dunkelbraun und setzte ein rosenrotes Uratsediment ab. Bei der Jafféschen Indicanprobe trat eine intensiv dunkelrote Färbung auf. Verdünnte Eisenchloridlösung für sich färbte den Harn schwach rot. Bei der Legalschen Acetonreaktion (S. 243) wurde die Probe nach dem Ansäuern mit Essigsäure sofort prachtvoll blau. Diese Reaktion wurde noch an vier anderen Menschenharnen bemerkt, von denen drei reich an Indican waren.

Pferde- und Katzenharn geben nach Thormählen bei der Legalschen Probe gleichfalls eine Blaufärbung, wenn auch nur schwach. Die Substanz, von welcher sie herrührt, ist nicht flüchtig, wird durch starke Mineralsäuren bald, durch organische langsamer zersetzt, dagegen nicht durch Alkalien, selbst nicht in der Siedehitze. Eisenchlorid sowie Bleizucker fällen sie nicht, wohl aber Bleiessig zum Teil und Bleisalz und Ammoniak fast vollständig. Aus dem Bleiniederschlag erhält man sie nicht durch Schwefelwasserstoff, aber durch kohlensaures Natron wieder. Tierkohle hält sie zurück. Aus dem Abdampfungsrückstand des Pferdeharns lässt sie sich durch siedenden Alkohol ausziehen; ein gleiches Volumen Äther fällt sie ziemlich vollständig aus der alkoholischen Lösung. Auch in Amylalkohol und Glycerin ist sie löslich, dagegen nicht in Chloroform, Petroläther, Benzol und Schwefelkohlenstoff; in heissem Äther und Essigäther löst sie sich nur wenig. Unter der Voraussetzung, dass es sich um eine Ätherschwefelsäure handelte, wurde noch versucht, das Kalisalz derselben nach Baumann und Brieger (S. 804) darzustellen und dabei wurde ein an Indican und der fraglichen Substanz reiches Produkt erhalten.

Der von Schölberg beobachtete Farbstoff.

Schölberg[2]) fand im Harn eines an peripherer Neuritis Leidenden einen roten Farbstoff, der in den gewöhnlichen Lösungsmitteln schwer löslich war und spektroskopisch einen Streifen zwischen Blau und Grün aufwies. Bei dem Vater und der Schwester des Patienten fand sich dasselbe Pigment im Harn.

---

[1]) Joh. Thormählen, Virchows Archiv **108**. 313. 1887.

[2]) Schölberg, Transact. of the pathol. soc. London 1902 July, zit. n. Jahresb. f. Tierch. **33**. 951.

Digitized by Google

Nephrorosein.

Im Harn von Scharlachrekonvaleszenten hat Arnold[1]) meist neben Urorosein einen diesem sehr ähnlichen Farbstoff beobachtet, der sich vom Urorosein durch sein spektroskopisches Verhalten unterscheidet.

Der Nephrorosein genannte Farbstoff zeigt ein ziemlich scharf begrenztes Absorptionsband zwischen b und F (λ 517—λ 500). Die stärkste Absorption entspricht dem nach F gelegenen Rand des Spektrums.

Eine reine Lösung des Farbstoffes ist mattrot, in konzentrierter Lösung nähert sie sich dem Ziegelrot. Um den Farbstoff zu erhalten, versetzt man den Harn mit konzentrierter Salzsäure unter Vermeidung eines Überschusses; weniger zweckmässig mit $^1/_3$ Vol. Salzsäure vom spezifischen Gewicht 1,19 und einem Tropfen 1%iger Natriumnitritlösung. Das Absorptionsband ist meist schon bei Untersuchung des so behandelten Harns am Spektralapparat sichtbar, bei zweifelhaftem oder negativem Ergebnis ist der amylalkoholische Auszug zu prüfen.

Das Verhalten gegenüber organischen Lösungsmitteln, Alkalien und Säuren ist das gleiche wie das des Uroroseins.

Im normalen Harn fand Arnold Nephrorosein nie, bei Scharlachrekonvaleszenten vom Ende der zweiten oder von der dritten Woche an fast regelmässig längere Zeit hindurch. Bei Eintritt von Nephritis in dieser Periode verschwand es bei schwerem Verlauf der Erkrankung ebenso wie das Urorosein und Urobilin. Mehrfach wurde Nephrorosein auch nach anderen Infektionskrankheiten (Masern, Flecktyphus), bei chronisch verlaufender Tuberkulose, bei orthostatischer Albuminurie, bei Nephritiden und bei Typhusrekonvaleszenten nach Darreichung von Salicylaten beobachtet.

Anhang.

Farbstoffe, die bei Gegenwart von Formaldehyd auftreten.

Nach de Jager[2]) wird normaler Harn auf Zusatz von Formalin und Salzsäure rot. Der entstandene rote Farbstoff wird von dem ausfallenden Formaldehyd-Harnstoff mit niedergerissen. In saurem Alkohol gelöst zeigt der Farbstoff einen Absorptionsstreifen zwischen C bis F.

[1]) V. Arnold, Zeitschr. f. physiol. Ch. **61**. 240. 1909.
[2]) L. de Jager, Ztschr. f. physiol. Chem. **64**, 110. 1910.

Digitized by Google

Er ist in konzentrierten Mineralsäuren löslich und fällt beim Verdünnen aus. Konzentrierte Schwefelsäure zerstört ihn, mit Salpetersäure wird er gelb. Mit Alkalien färbt er sich orangegelb bis braun. Die Muttersubstanz ist in der nach Garrod bereiteten Urochromlösung (s. dieses) vorhanden.

Im Harn von schweren Diabetikern beobachtete Stryzowski[1]) bei Zusatz von 5% Formalin nach 12—24 stündigem Stehen Bildung eines grünfluorescierenden Farbstoffes. Zur Isolierung wurde der mit Bleiessig vorbehandelte Harn mit 5% Formalin 1—2 Tage stehen gelassen, dann mit Chloroform ausgeschüttelt, die blaufluorescierende Lösung mit Ammoniakwasser gewaschen und das Pigment dem Chloroform mit verdünnter Salzsäure entzogen. Die salzsaure Lösung wurde mit Ammoniak alkalisch gemacht und wieder mit Chloroform ausgeschüttelt. Der rotgelbe Farbstoff, der aus dem Chloroform zurückbleibt, ist in Wasser und Alkohol löslich, in Petroläther und Schwefelkohlenstoff unlöslich. Die Lösung absorbiert das Spektrum bis gegen F. — Mineralsäuren sowie Oxydationsmittel heben die Fluorescenz auf, Alkalien, nascierender Wasserstoff in alkalischer Lösung und Erhitzen der Lösung sind ohne Wirkung auf die Fluorescenz.

Wie Gaupp[2]) nachgewiesen hat, entsteht der fluorescierende Farbstoff, wenn Acetessigsäure, Ammoniak und Formaldehyd zusammentreten. Die Reaktion ist daher im Harn vieler Kachektischer, in dem diese Bedingung erfüllt ist, positiv.

[1]) K. Stryzowski, Pharmac. Post **39**. 2. 1906, zit. n. Jahresber. f. Tierch. **36**. 320.

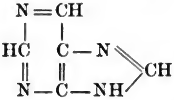
[2]) O. Gaupp, Biochem. Zeitschr. **13**. 138. 1908.

Digitized by Google

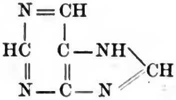
Die Purinstoffe und das Allantoin.

Von W. Wiechowski-Prag.

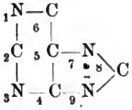
Die Purinstoffe[1]), deren Konstitutionsermittelung wir E. Fischer und seinen Schülern verdanken, sind Derivate des aus neun Gliedern ringförmig zusammengesetzten Purins (abgeleitet von purum uricum E. Fischer[2])), welches einen Pyrimidinkern mit einem Imidazolkern (Glyoxalinkern) kombiniert darstellt:



oder

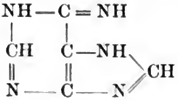


Sie werden nach dem Schema:



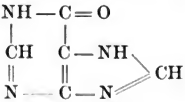
bezeichnet.

Die im Harn vorkommenden Purine sind Substitutionsprodukte des Purins mit Amino-, Sauerstoff- und Methylgruppen, wonach man Amino-, Oxy- und Methylpurine unterscheidet. Bei den Amino- und Oxypurinen sind zwei tautomere Formeln möglich. Insofern man sie nämlich als Derivate des gesättigten Purins auffasst, sind sie als Imino- und Keto(Laktam)verbindungen zu bezeichnen, z. B.



Adenin

und



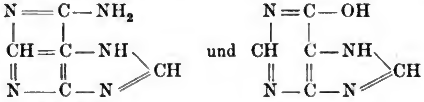
Hypoxanthin

[1]) Die Purinstoffe des tierischen Organismus wurden früher, mit Ausnahme der Harnsäure, Nukleinbasen (Kossel), Alloxurbasen (Kossel und Krüger) oder Xanthinbasen, die ganze Gruppe samt der Harnsäure Alloxurkörper (Kossel und Krüger) genannt.

[2]) B. B. 17. 329. 1884; 31. 2550. 1898.

Digitized by Google

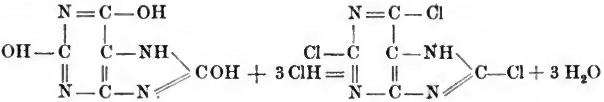
Fasst man sie aber als Derivate des ungesättigten Purins auf, so sind sie als Amino- und Enol(Laktim)verbindungen zu schreiben:



Adenin und Hypoxanthin

Man kann zwischen beiden Formeln meist nicht sicher entscheiden (bei vielen Reaktionen reagieren die Oxypurine als Enole). Da es aber zweckmässig ist, sich stets einer bestimmten Formel zu bedienen, so werden nach dem Vorschlage von E. Fischer[1]) die Oxypurine als Keto(Laktam)verbindungen und die Aminopurine als primäre Amine geschrieben. In jenen Purinstoffen, welche den Wasserstoff des Glyoxalinrings unsubstituiert enthalten, tritt ausserdem noch die dem Purin selbst zukommende Tautomerie auf, indem dieses Wasserstoffatom keine bestimmte Stelle einnimmt (s. oben), da beim Methylieren z. B. des angeführten Adenins ein Gemenge von zwei Methyladeninen erhalten wird (E. Fischer[2])). Aus Gründen der Einheitlichkeit werden diese Purinstoffe nach E. Fischer mit der NH-Gruppe in Stellung 7 geschrieben.

Die Kenntnis der Konstitution des Purins und der Purinstoffe baut sich auf der Kenntnis von der Molekularstruktur der Harnsäure auf, da das Purin von E. Fischer aus der Harnsäure dargestellt wurde. Durch Phosphoroxychlorid werden die 3 O-Atome der Harnsäure durch Cl ersetzt, wobei die Harnsäure als Laktim (Enol) reagiert. In dem gebildeten Trichlorpurin, welches unter der Voraussetzung, dass die Konstitution der Harnsäure richtig erkannt ist, die folgende Formel haben muss:



werden durch stufenweise Reduktion die Cl- durch H-Atome ersetzt. Die vollständige Reduktion liefert das Purin, welchem daher die oben gegebene Formel zukommen muss.

Eine direkte Synthese des Purins ist übrigens nach dem Vorgange von S. Gabriel und J. Colman, welche als erste ein sauerstofffreies Purinderivat direkt synthesiert haben, Oskar Isay gelungen. 5-Nitrouracil wird durch Phosphoroxychlorid in 2,4-Dichlor-5-Nitropyrimidin verwandelt, dieses gibt mit Ammoniak 4-Amino-2-chlor-5-nitropyrimidin, aus dem durch Behandeln mit Phosphoniumjodid und Jodwasserstoff das 4,5-Diaminopyrimidin gewonnen wird, das beim Kochen mit wasserfreier Ameisensäure in Purin übergeht (B.B. **39**. 250. 1906).

[1]) B. B. **30**. 556. 1897.
[2]) B. B. **30**. 549. 2249. 1897.

Digitized by Google

Purin F. 216—217° bei raschem Weitererhitzen sublimierende weisse Nädelchen, sehr l. in W., A. swl. in Ae. Nitrat, F. 205° unter Zersetzung. Pikrat, gelbe glänzende Blättchen aus 21 T. sied. W. F. 108°. Weiter Chlor- und Jodhydrat, Sulfat. Pt-Au-Na-Ba-Ag-Salz in heissem Wasser schwer lösl. Zn-Salz, $HgCl_2$-Doppelsalz, kryst. Pulver. KJ, Nesslers Reagens, Ferrocyankalium, Ferrocyanwasserstoff fällen nicht. PWS fällt milchig, Tanninlösung fällt flockig, Jodwismutkalium einen roten körnigen Niederschlag, der ich in der Hitze löst. Brom fällt aus Purinlösung in rauchender Salzsäure einen schön krystallisierenden gelbroten Körper, der sich beim Erwärmen löst. Murexidreaktion ist negativ, gegen Oxydationsmittel ist das Purin relativ beständig (E. Fischer, B.B. **31.** 2550. 1898). Die Reduktion des Trichlorpurins zu Purin geht folgendermassen: mit HJ entsteht Dijodpurin, welches über das Ammoniaksalz gereinigt wird, das Dijodpurin wird dann mit Zinkstaub unter Einleiten von CO_2 zu Purin reduziert, wobei sich die Base völlig als unlösliches Zn-Salz abscheidet, dieses wird unter Erwärmen mit H_2S zerlegt und die Rohbase über das Nitrat gereinigt (E. Fischer, ebenda).

Die Purinstoffe sind lediglich in den Nucleinsäuren vorgebildet. Eiweiss enthält keine Purine (Kossel). Aus den Nucleinsäuren werden sie, wie oben besprochen, in Freiheit gesetzt und kommen dann in den betreffenden Organismen auch frei vor. Die Methylxanthine der Pflanzen kommen, so weit bekannt, nur frei vor.

A. Allgemeine Übersicht.

I. Physiologisches Verhalten. Die Purinstoffe des Harns entstammen teils den Purinen der Nahrung (exogene Harnpurine), teils haben sie ihre Quelle im Organismus selbst (endogene Harnpurine)[1].

Der im Organismus entstehende Teil verdankt seinen Ursprung entweder dem Abbau der körpereigenen Nucleinsäuren oder einer Synthese aus purinfreiem Material.

Nach Art der Entstehung der endogenen Harnpurine lassen die Wirbeltiere zwei scharf getrennte Gruppen unterscheiden.

Die eine Gruppe umfasst die auch sonst als zusammengehörig erkannten und als Sauropsiden vereinigten Klassen der Vögel und Reptilien. Bei ihnen wird die Hauptmasse des Harnstickstoffs in Purinform (Harnsäure) ausgeschieden, und die Zufuhr jeder beliebigen N-haltigen Nahrung steigert die Purinausscheidung, während der Harnstoff nur in geringer Menge auftritt, ja, wenn als solcher zugeführt, in Harnsäure umgewandelt wird (H. H. Meyer[2])). Hier verdankt also der grössere Teil der endogenen Harnpurine einer im Organismus vorsichgehenden Synthese seinen Ursprung und nur ein wesentlich kleinerer zweiter Teil kommt von den im Stoffwechsel durch Abbau der Körperbestände frei werdenden Purinen her.

Der zweiten Gruppe der Wirbeltiere gehören die Säugetiere und wahrscheinlich auch die Fische und Amphibien an. Sie entleeren flüssigen Harn. Bei ihnen tritt die Harnpurinausscheidung gegenüber der Harnstoffausscheidung zurück. Die Hauptmenge des Harnstick-

[1]) R. Burian und H. Schur, Pflügers Arch. **80.** 241; V. O. Siven, Sk. Arch. f. Phys. **11.** 123. 1900.

[2]) Hans Meyer, Beiträge zur Kenntnis des Stoffwechsels im Organismus des Huhnes. Inaug.-Dissert. Königsberg 1877.

Digitized by Google

stoffs wird als Harnstoff ausgeschieden und jede beliebige einer Grundkost hinzugefügte N-haltige Nahrung steigert die Harnstoffausscheidung, soweit nicht Ansatz erfolgt. Aber nur die Zulage bestimmter Nahrungsstoffe steigert auch die Purinausscheidung, während die Zulage anderer Nahrungsstoffe keinen Einfluss auf die Menge der ausgeschiedenen Purine zeigt.

Nach Zulage von 24 Eiern zu einer konstanten Kost trat beim Menschen keine Vermehrung der Harnpurine ein (an der Harnsäureausscheidung gemessen)[1]). Dagegen steigt nach Fleischzulage der Harnpurinwert bedeutend und mit der Grösse der Zulage in steigendem Masse an[2]). Andererseits sinkt die Harnpurinausscheidung, wenn man von gemischter Kost zu fleischloser oder N-freier übergeht[3]). Es besteht kein Parallelismus zwischen Gesamt-N(Harnstoff)- und Purinausscheidung (Harnsäureausscheidung beim Menschen)[4]). Es hat sich nun herausgestellt, dass alle Nahrungsstoffe oder Substanzen, welche die Harnpurinausscheidung der Säugetiere erhöhen, freie oder gebundene Purine enthalten. Diese sind es allein, wie beim Fleisch, welche die Vermehrung der Harnpurine bedingen[5]). Die Harnpurine des Säugetieres entstehen also entgegen einer früher allgemeinen Annahme nicht aus Eiweiss, sondern, soweit sie nicht präformiert eingeführt werden, lediglich aus den im Stoffwechsel zerfallenden Nucleinsäuren der Zellen, also durch Abbau und nicht durch Synthese. Der Purinhaushalt der Säugetiere lässt sich demnach nur bei purinfreier Ernährung bzw. unter genauer Berücksichtigung des Puringehaltes der Nahrung studieren. Alle die zahlreichen Untersuchungen, die ohne Berücksichtigung der Qualität der Nahrung ausgeführt worden sind, haben heute ihren Wert verloren. Schon aus dem bisher Gesagten geht hervor, dass der Purinstoffwechsel der Säuger ein selbständiger, autonomer Teil des Gesamt-N-Stoffwechsels ist und dass daher die auch heute noch manchmal aufgestellte Beziehung Purin-N zu Gesamt-N gar keine Aufschlüsse geben kann, solange man nicht Mittel hat, auch den endogenen N-Wechsel bei sonst ausreichender Ernährung zu bestimmen.

Allerdings muss auch bei den Säugetieren eine synthetische Bildung von Purinstoffen im Stoffwechsel angenommen werden, da sich im Organismus Nucleoproteide aus purinfreiem Material bilden. Bei der

---

1) Hess und Schmoll, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **37**. 243. 1896.

2) Mareš, Arch. slaves de Biol. **3**. 207. 1887; Sbornik lekarsky **2**. 1. 1888. — Hopkins und Hope, Journ. of phys. **23**. 271. 1898. — P. Pfeil, Zeitschr. f. phys. Chem. **40**. 1. 1903.

3) Pfeil, l. c.

4) Mareš, l. c., Salkowski, Virch. Arch. **117**. 570. 1889; Zeitschr. f. d. med. Wissensch. 1890. 360. — Schreiber und Waldvogel, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **42**. 69. 1899

5) Burian und Schur, l. c., Siven, l. c. Weintraut, Berl. klin. Wochenschr. 1895. 405. — J. Strauss, ebenda. 1896. 710. — Smith Jerome, Journ. of phys. **22**. 146. 1898. — K. Rzentkowski, nach Malys J. T. **30**. 760.

Digitized by Google

Ernährung des neugeborenen Säugetieres mit der purinfreien Muttermilch nimmt sein Purinstoffgehalt mit dem Wachstum zu [1]) und trotz vollkommen purinfreier Ernährung des Erwachsenen ist die Erhaltung des Körperbestandes bei dauernder Purinausscheidung gewährleistet. Aber diese synthetische Bildung kann nicht die zur Ausscheidung gelangenden Purine betreffen — dagegen spricht die individuelle Konstanz des endogenen Purinwertes bei verschiedener Ernährung (siehe weiter unten) —, sondern kann sich nur auf die neugebildeten Nucleoproteide (oder Nucleinsäuren) beziehen. Diese postulierte Synthese hat jedenfalls nichts zu tun mit den verschiedenen Versuchen, die Synthese einzelner Purinstoffe im Organismus zu beweisen, welche alle als gescheitert gelten können [2]).

Im Harn sind folgende Purine gefunden worden:

Basen:

6-Aminopurin (Adenin), 2-Amino-6-Oxypurin (Guanin) und sein 7-Methylderivat (Epiguanin), 6-Oxypurin (Hypoxanthin, Sarkin), 2-6-Dioxypurin (Xanthin) und seine Methylderivate: 1-Methylxanthin, 1-7-Dimethylxanthin (Paraxanthin), 7-Methylxanthin (Heteroxanthin).

Harnsäure (2-6-8-Trioxypurin)

und unter besonderen Bedingungen: 3-Methylxanthin, 1-3-Dimethylxanthin, 3-7-Dimethylxanthin (Theobromin), 1-3-7-Trimethylxanthin (Kaffein), 7-Methyl-8-Dimethylaminoxanthin und 6-Amino-2-8-Dioxypurin.

Die nähere biologische und chemische Beziehung dieser Stoffe zueinander erscheint durch die Art der Seitenketten bedingt.

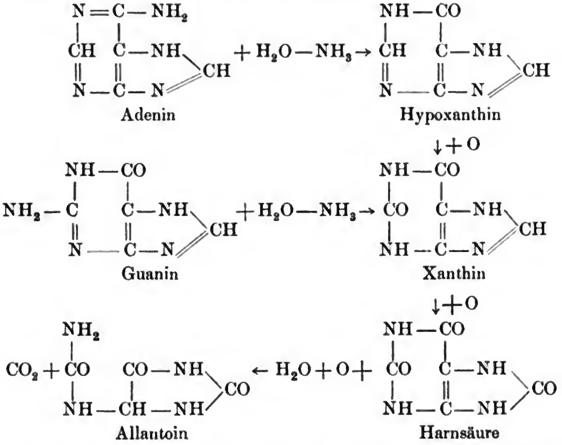
Bei den natürlich vorkommenden Amino- und Oxypurinen stehen die Seitenketten in den Stellungen 2, 6, 8. Bei den natürlich vorkommenden Methylpurinen stehen die Methylreste in den Stellungen 1, 3, 7. Die Methylpurine (Methylderivate des Xanthins) bilden eine biologische Gruppe für sich. Sie kommen, soweit bekannt ist, primär nur im Pflanzenreiche vór. Ihr Auftreten im Harn hängt von ihrer Aufnahme mit der Nahrung ab, und sie haben zu den Purinen der Nucleinsäuren und ihren Umwandlungsprodukten (Harnsäure, Allantoin) nur eine sehr lockere Beziehung. Die Amino- und Oxypurine ihrerseits bilden ebenfalls eine Gruppe für sich. Die Aminopurine sind in den tierischen und pflanzlichen Nucleinsäuren vorgebildet (siehe dort). Sie gehen durch Desaminierung im Organismus in die Oxypurine Hypoxanthin und Xanthin und durch Oxydation weiter in Harnsäure über. Schliesslich

[1]) R. Burian, Zeitschr. f. phys. Ch. **23**. 55. 1897.

[2]) Synthese von Harnsäure aus Harnstoff und dreigliedrigen Kohlenstoffketten. H. Wiener, Hofmeisters Beitr. zur ch. Phys. und Path. **2**. 42. — R. Burian, Zeitschr. f. phys. Ch. **43**. 479. 1905. — W. Pfeifer, Hofmeisters Beitr. **10**. 324. 1907. — Harnsäure aus Dialursäure: Ascoli und Mitarbeiter (s. Harnsäure), Harnsäure aus Cholesterin und Ammoniak, Moska und Apolloni (s. bei Harnsäure), aus Pyrimidin, Kossel und Steudel, von Basen aus Harnsäure, Kutscher und Seemann, Zeitschr. f. phys. Ch. **17**. 715. — R. Burian, Zeitschr. f. phys. Ch. **43**. 479. 1905.

Digitized by Google

wird auch die Harnsäure zu Allantoin oxydiert, welch letzteres als unangreifbares Endprodukt des Purinstoffwechsels im Harne ausgeschieden wird. Das Allantoin muss daher — wiewohl nicht mehr den Purinring aufweisend — in physiologischer Beziehung zu den Purinsubstanzen gerechnet werden (siehe das folgende Schema).



In den folgenden Ausführungen ist daher unter Gesamt-Purinausscheidung die Allantoinausscheidung stets mit inbegriffen.

1. Die endogene Purinausscheidung.

Der bei purinfreier Ernährung vom Säugetier gelieferte endogene Purin-N-Wert zeigt, wie zuerst Burian und Schur und Siven für den Menschen festgestellt haben, pro 24 Stunden einen für das einzelne Individuum sehr konstanten Wert, unabhängig von der Menge der aufgenommenen Nahrung und des getrunkenen Wassers. Er hält sich bei gesunden Personen monate- und jahrelang auf der gleichen Höhe[1]).

[1]) R. Burian und H. Schur, Pflügers Arch. **80**. 241. 1900. — Siven, V. O., skand. Arch. f. Phys. **11**. 123. 1900. — Burian und Schur, Pflügers Arch. **87**. 239. 1903. — Kaufmann und Mohr, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **74**. 141. 384, 584. 1902. — Pfeil, l. c. — Burian und Schur, Pflügers Arch. **94**. 273. 1903. — E. W. Rockwood, Am. Journ. of phys. **12**. 38. 1904. — Bloch, Arch. f. klin. Med. **83**. 499. 1905. — Pierre Fauvell, C. r. ac. des sc. **142**. 1292. 1906. — I. R. Macleod und H. Haskins, Journ. of biol. Chem. **2**. 231. 1906.

Digitized by Google

Doch gilt diese Konstanz nur bei gleichmässiger Lebensweise und innerhalb gewisser, allerdings ziemlich weiter Schwankungen in der purinfreien Ernährung. Bei exzessiven Schwankungen in der Aufnahme von purinfreien Nahrungsstoffen findet schliesslich doch auch eine Änderung der Purinausfuhr statt[1]). Im nüchternen Zustande (12 bis 15 Stunden) nach der letzten Nahrungsaufnahme stellt sich die Harnpurin-

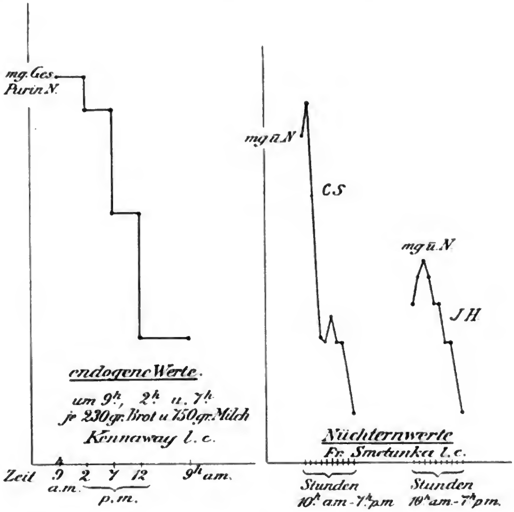


Fig. 42.

ausscheidung auf ein niedrigeres Niveau ein („Nüchternwert", Mareš „Hungerstandard", Burian[2])). Im ausgesprochenen Hunger ist dann der Wert noch geringer, um im exzessiven Hunger wieder zu steigen[3]).

[1]) Folin, Am. Journ. of phys. **13**. 66. 1905. — L. B. Mendel, Journ. of the am. med. ass. 1906. — Mareš, Pflügers Arch. **134**. 59. 1910.

[2]) Mareš, Arch. slaves. l. c. u. Pflügers Arch. **134**. 59. 1910. — Burian, Zeitschr. f. phys. Ch. **43**. 534. 1904. — Brugsch und Schittenhelm, Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. **4**. 761. 1907. — Hirschstein, Arch. f. exp. Path. u. pharm. **57**. 229. 1907.

[3]) E. P. Cathcart, Bioch. Zeitschr. **6**. 109. 1907.

Digitized by Google

Untersucht man nicht 24 stündige, sondern kürzere Perioden, so zeigt sich schliesslich nach Aufnahme von purinfreier Kost beim nüchternen Menschen doch regelmässig eine vorübergehende Steigerung der Purinausscheidung [1]). Diese Abweichungen von der im allgemeinen zu Recht bestehenden Konstanz des endogenen Wertes sind auf fehlende bzw. gesteigerte Verdauungsarbeit zu beziehen. Im strengen Sinne stellt nicht der endogene, sondern der „Nüchternwert" die eigentliche individuell konstante Grösse des Purinstoffwechsels dar.

Die Ausscheidung der endogenen Harnpurine erfolgt in den 24 Stunden des Tages nicht gleichmässig, sondern in einer mehr minder regelmässigen Kurve, welche um die Mittagszeit ein Maximum und in den Abend- bzw. Nachtstunden ein Minimum aufweist (Fig. 42) [2]). In dieser Kurve markiert sich die Aufnahme einer purinfreien Mahlzeit als Erhebung oder als Verschiebung des Maximums [3]). Den höchsten Ausschlag bewirkt Eiweissaufnahme (Casein), nur wenig weniger wirkten Kohlehydrate (Kartoffeln, Honig) [4]). Die Steigerung setzt ungemein rasch nach der Aufnahme ein und kennzeichnet sich dadurch als durch die Verdauungsarbeit bedingt (Mareš, l. c.).

Über die Herkunft der endogenen Harnpurine sind verschiedene Vermutungen geäussert worden. Dass sie letzter Linie von im Körper zerfallenden Nucleinsäuren und somit den Nucleoproteiden, die ihrerseits einen Hauptbestandteil der Zellkerne ausmachen, abstammen müssen, erscheint heute unzweifelhaft und man wird daher die endogenen Harnpurine als Produkte des Kernstoffwechsels im allgemeinen aufzufassen haben, wie dies Mareš tut (Pflügers Archiv, l. c.). Diese Auffassung ist jedenfalls ansprechender als die Annahme Schittenhelms, dass die endogenen Harnpurine lediglich den absterbenden Zellen, „Mauserungsvorgängen", ihren Ursprung verdanken, oder die verschiedenen Versuche einem bestimmten Organ hauptsächlich oder ausschliesslich ihre Bildung zuzuschreiben. In der letzteren Beziehung hat die Theorie von Horbaczewski [5]), die Quelle der Harnpurine seien ausschliesslich zerfallende Leucocyten, am meisten zu weiteren Untersuchungen Anlass gegeben. Gegen dieselbe wurde hauptsächlich eingewendet, dass sich ein Parallelismus zwischen Hyperleukocytose und Harnsäuresteigerung beim Menschen nicht allemal fest-

---

[1]) Hirschstein, l. c. Shermann, Journ. am. chem. soc. **25**. 1159. 1905. — Hopkins und Hope, Journ. of phys. **23**. 289. 1898. — Smetanka, Pflügers Arch. **138**. 217. 1911.

[2]) Siven, Sk. Arch. f. Phys. **11**. 143. 1901. — Pfeil, l. c.; Hirschstein, l. c. — J. B. Leathes, Journ. of phys. **35**. 1907. — Kennaway, ebenda **38**. 1. 1909. — Smetanka, l. c.

[3]) Hirschstein, l. c.; Smetanka, l. c. — Cast. C. Douglas, Edinburgh med. Journ. 1901; Arch. f. Verdauungskrankh. **7**. 200. 1901. — Muskeltätigkeit, Burian, Zeitschr. ph. Ch. **43**. 532. 1904.

[4]) Smetanka, l. c.

[5]) Monatsh. f. Chem. **10**. 624. 1889.

Digitized by Google

stellen lasse. In allen Fällen von Leukocytose ist zwar die Harnsäureausscheidung gesteigert, aber es gibt auch Fälle von Harnsäuresteigerung ohne Leukocytose [1]).

Hirschstein führt die endogenen Harnpurine auf den angeblichen Puringehalt der Verdauungssäfte zurück [2]), welche aber von Brugsch und Schittenhelm purinfrei gefunden worden sind [3]). Auch Mareš [4]) hält die Verdauungssäfte für eine Quelle der endogenen Harnpurine. Nach Siven [5]) hat die Verdauungsarbeit keinen Einfluss auf die Harnsäureausscheidung des Menschen. Als Quelle der endogenen Purine nimmt Siven die Muskeltätigkeit an. Die gleiche Anschauung, durch Versuche gestützt, vertritt Burian [6]). In einer späteren Publikation führt Siven die endogene Purinausscheidung auf die Nierentätigkeit zurück [7]). Gegen die Hypothese der Entstehung der endogenen Purine durch die Muskeltätigkeit wurden Beobachtungen an Muskelkranken bzw. bei an Krämpfen Leidenden angeführt, die mit ihr nicht in Einklang stehen [8]).

Der 24stündige endogene Purin-N-Wert des Menschen schwankt von Individuum zu Individuum nicht unerheblich. Die grössten beobachteten Schwankungen betrugen 0,08—0,25. Burian und Schur (l. c.) sowie Kaufmann und Mohr (l. c.) fanden im Mittel 0,15 und 0,20; Siven (l. c.) 0,15. Nach Brugsch und Schittenhelm [9]) sind Werte von 0,0—0,11 unternormal, 0,11—0,15 niedrignormal, 0,15 bis 0,22 hochnormal, und Werte über 0,22 übernormal. Beim neugeborenen Menschen ist die endogene Purinausscheidung relativ hoch (Zeit des Harnsäureinfarktes) und sinkt dann bei Brustnahrung auf sehr niedrige Werte (Trautner [10])). Mittlere Hunde scheiden im Hunger 0,074—0,105 und Kaninchen im Hunger 0,021—0,027 Gesamtpurin-N in 24 Stunden aus (Wiechowski [11])).

Der endogene Harnpurin-N-Wert zeigt, wie bereits hervorgehoben, keine Abhängigkeit von dem Gesamt-N des Harns. Gesteigerte Diurese

---

[1]) Mellis-Schirru, Zentralb. f. i. Med. **20**. 1041. 1899. — Weiss, Zeitschr. f. phys. Chem. **27**. 216. 1899. — Bohland, Münch. med. Wochenschr. 1899. 507. — Hopkins und Hope, Journ. of. phys. **23**. 271. 1899. — Cast. C. Douglas, l. c.

[2]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **57**. 229. 1907.

[3]) Zeitschr f. exp. Path. u. Th. **4**. 761. 1907.

[4]) Pflügers Arch. l. c.

[5]) Sk. Arch. f. Phys. **11**. 123. 1901.

[6]) Zeitschr. f. phys. Chem. **43**. 532. 1905.

[7]) Sk. Arch. f. Phys. **18**. 193. 1906.

[8]) E. I. Striggs, Quarterly Journ. of. med. **1**. 63, 1907. — Schittenhelm in Oppenheimers Handb. d. Biochem. 4. 521. — Mit der Theorie von Burian stimmt der unten erwähnte Fall von Skutetzki (Polymyositis acuta) überein.

[9]) Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. **4**.

[10]) Nord. med. Arch. **2**. 42. 1909 und unveröff. eigene Untersuch.

[11]) Hofmeisters Beitr. z. chem. Phys. u. Path. **11**. 109. 1907.

Digitized by Google

lässt ihn unbeeinflusst (Burian und Schur[1]), Schöndorf[2])). Eine einfache Beziehung zum Körpergewicht der einzelnen Individuen besteht nicht. Schwerere scheiden zwar mehr aus, aber die Steigerung des Körpergewichts erfolgt erheblich rascher. Ebenso scheint eine einfache Beziehung zu der Menge der im Hunger gleichzeitig ausgeschiedenen Phosphorsäure nicht zu bestehen, die eigentlich zu fordern wäre. Die Phosphorsäureausscheidung von Hunden und Kaninchen ist im Hunger erheblich grösser als der Gesamt-Purin-N-Ausscheidung entspricht, wenn man das Verhältnis Phosphorsäure zu Purin-N in der Thymonucleinsäure zugrunde legt (unveröffentlicht). Vielleicht ergibt sich eine derartige Beziehung beim normalen Brustkinde, das von beiden nur Spuren ausscheiden soll (vgl. zur Phosphatausscheidung der Säuglinge Moll[3])).

Der sonst individuell konstante endogene Harnpurin-N-Wert ist durch verschiedene Einflüsse sowie durch Krankheit und Giftwirkung abänderbar. Durch Abkühlung[4]) und durch starke ungewohnte Muskelanstrengung[5]) wird er gesteigert. Beim Training verwischt sich diese Wirkung[5]).

Das Fieber hat gleichfalls einen steigernden Einfluss[6]). Ferner ist er in jenen krankhaften Zuständen erhöht, welche mit einer Hyperleukocytose oder der Bildung und Resorption zellreicher Exsudate einhergehen: Nach Milzexstirpation[7]), bei der Lösung der Pneumonie[8]), bei Leukämie[9]), nach ausgedehnten Verbrennungen[10]) und nach Röntgenbestrahlung[11]). Aus früheren Untersuchungen, welche

[1]) Pflügers Arch. l. c.

[2]) Pflügers Arch. 81. 48. 1901. — Rulon jr. und Hawk, Journ. am. ch. soc. **32**. 1686. 1911.

[3]) Jahrb. f. Kinderheilk. **69**. N. F. 29. 1909.

[4]) Proc. royal soc. **79**. 541. 1907. — Cathcart, Kennaway, Leathes, Quart. Journ. of med. **1**, 416. 1908.

[5]) Burian, Zeitschr. f. phys. Ch. **43**. 532. 1904. — Cathcart, Kennaway, Leathes, l. c. — Kennaway, Journ. of phys. **38**. 1. 1909. — Vgl. auch Herter und Smith, New York med. Journ. 1892. 617. — Sherman, Journ. of the am. ch. soc. **25**. 1159. — Rockwood, Am. Journ. of phys. **12**. 38. — Siven, Sk. Arch. **11**. l. c.

[6]) Cathcart, Kennaway, Leathes, l. c.; R. Mandel, Am. Journ. of phys. **10**. 452. — I. B. Leathes, Journ. of Phys. **35**. 205. 1907.

[7]) L. B. Mendel und B. Gibson, Am. Journ. of phys. **18**. 1907.

[8]) Fr. v. Müller, Ver. d. naturf. Ges. Basel **13**. Mai 1901. — O. Simon, Arch. f. klin. Med. **70**. 604. 1901. — Carlyle Pope, Zentralbl. f. inn. Med. **20**. 657. 1899.

[9]) Unter anderen Y. Henderson und H. Edwards, Am. Journ. of phys. **9**. 417. — Brugsch und Schittenhelm, Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. 4. 481. 1907.

[10]) Horbaczewski, Monatsh. f. Ch. **12**. 234. 1891.

[11]) Br. Bloch, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **83**. 499. 1905. — P. Linser und K. Sick, ebenda 89. 413. 1907. — H. Königsberger, ebenda, **87**. 31. 1906. — Heile, Zeitschr. f. klin. Med. **55**. 598. 1904. — Röntgenbestrahlung bei Leukämie: B. Vas, Zeitschr. f. klin. Med. **68**. 1909. — Rosenbaum, Diss. Leipzig 1907. — Williams, Biochem. Journ. **1**. 249. 1906. — I. Rosenstern, Dissert. München 1906.

Digitized by Google

allerdings nicht nur die endogene Ausscheidung berücksichtigt haben, aber bei denen wahrscheinlich nur diese bestimmt worden ist, scheint hervorzugehen, dass bei Lebercarcinom eine Steigerung des endogenen Purinwertes vorkommt [1]). Wir hatten Gelegenheit, einen Patienten, der an familiärer Adipositas und Lebercarcinom litt, zu untersuchen und seine endogene Purinausscheidung durch längere Zeit zu verfolgen. Der Gesamt-Purin-N schwankte nicht unerheblich von Tag zu Tag, zeigte aber immer bis zum Tode die enorme Höhe von mindestens 0,5 pro die. (Bass und Krecmanowicz, unveröffentlicht.)

Bei der Gicht bewegt sich die endogene Purinausscheidung in einer grossen Anzahl von Fällen an der unteren Grenze der Norm oder ist ausgesprochen unternormal [2]). In einem Falle von Polymyositis acuta fand Skuteztky sehr niedrige Harnsäurewerte, bis 0,025 pro die [3]) und Rosenberger [4]) fand sehr niedrige Werte bei Pankreaserkrankungen.

Die Beeinflussung der endogenen Purinausscheidung durch Arzneimittel und Gifte ist bisher systematisch nicht untersucht worden, aus dem vorliegenden Material geht hervor, dass eine Vermehrung verursachen: Pilocarpin [5]), Glycerin [6]), die Phosphorvergiftung beim Menschen [7]). Ich fand die Purinausscheidung der Kaninchen bei der P-Vergiftung nicht verändert (unveröffentlicht). Salicylsäure [8]).

Zufuhr von Alkohol wirkt steigernd auf die Ausscheidung, Landau [9]), Schittenhelm [10]). Nach anderen Autoren hat er auf die endogene Ausscheidung keinen Einfluss [11]). Deutlich steigernd wirkt Radiumemanation [12]) und Thorium-X [13]), auch Oxalsäure soll so wirken [14]) und gewisse Mineralquellen (Schwefelwässer, Brown [15])), das Wasser von S. Pellegrino [16]) und in ganz hervorragender Weise beim Menschen

---

1) Pott, R., Pflügers Arch. **46**. 509. 1890. — Horbaczewski. Monatsh. f. Ch. **12**. 322. 1891.

2) Brugsch und Schittenhelm, Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. **4**. 1907.

3) Münch. med. Wochenschr. 1912. Nr. 11.

4) Zeitschr. f. Biologie **48**. 529. 1906.

5) Mareš, Arch. slaves, l. c. — Horbaczewski, Monatsh. f. Ch. **12**. 322. 1891.

6) Horbaczewski und Kanera, ebenda, **7**. 105. 1886.

7) Münzer, E., Zentralbl. f. klin. Mediz. **13**. Nr. 24. 1892.

8) Bohland, Zentralbl. f. inn. Med. **17**. 70. 1896. — P. Fauvel, C. r. ac. des sc. **144**. 932. 1907. — Schreiber und Baudy, Arch. f. klin. Med. **62**. 242. 1899. — Burian, Zeitschr. f. ph. Ch. **53**. 497. 1905. — Rockwood und Epps, Am. Journ. phys. **19**. 97. 1907.

9) Arch. f. klin. Med. **95**. 280. 1909.

10) Zeitschr. f. phys. Ch. **62**. 97. 1909.

11) Beebe, Am. Journ. pf phys. **12**. 13. 1904. — Chittenden und Beebe, ebenda. — Proc. of the am. phys. soc. 1903. XI. — Weiss, Münch. med. Wochenschr. 1901. 1048. — Haeser, Dissert. Greifswald. 1901. — Rosemann, Deutsche chem. Wochenschr. 1901. 531.

12) Gudzent, med. Kl. 1910. 42.

13) Plesch und Karczag, Münch. med. Wochenschr. 1912.

14) Montuori, Rend. conti della R. ac. de la sc. Napoli 1911. fasc. 12.

15) Brit. med. Journ. 1910. 421.

16) Gilardino, Therap. Monatsh. **18**. 69. 1904.

Digitized by Google

die 2-Phenyl-chinolin-4-Carbonsäure, das Atophan[1]). Die Angaben über die steigernde Wirkung des Hydrazins konnten nicht bestätigt werden (siehe bei Allantoin). Ob alle diese Substanzen auf den Purinstoffwechsel wirken und die beobachtete Steigerung nicht indirekt auf dem Umwege über die Leukozyten wirkt oder ob es sich schliesslich nicht um eine Beeinflussung der Ausscheidung handelt, ist noch nicht festgestellt. Das Atophan macht jedenfalls keine Leucocytose. Zufuhr von Alkalien, von denen man sich beim Menschen seinerzeit viel versprochen hat, wirken nicht[2]).

Die endogene Purinausscheidung setzten herab: Atropin (Horbaczewski[3])), Chinin (Horbaczewski[3]), R. Daniel[4])), Lecithin

[1]) Arthur Nicolaier und Max Dohrn, Über die Wirkung von Chinolincarbonsäuren und ihrer Derivate auf die Ausscheidung der Harnsäure. Deutsches Arch. f. klin. Med. **93**. 1908. — E. A. Tschernikow und J. S. Magat, Zur Frage des Einflusses der Phenylcinchoninsäure (Atophan) auf die Harnsäureausscheidung bei Gicht und Gelenkrheumatismus. Vorläufige Mitteilung. Charkower med. Journ. 1910. — W. Weintraud, Die Behandlung der Gicht mit Phenylchinolincarbonsäure (Atophan) nebst Bemerkungen über die diätetische Therapie der Krankheit. Ther. d. Gegenw. März 1911. — Ernst Heller, Atophan bei Gicht und akutem Gelenkrheumatismus. Berl. klin. Wochenschr. 1911, Nr. 12. — K. Georgiewsky, Phenylcinchoninsäure (Atophan) bei Gicht. Deutsche med. Wochenschr. 1911. Nr. 22. — E. Starkenstein, Über die Beeinflussung des Purinstoffwechsels durch Phenylcinchoninsäure (Atophan). Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **65**, 3. u. 4. Heft, S. 177—196. 1911. — Weintraud, Zur Wirkung der 2-Phenylchinolin-4-carbonsäure (Atophan) bei der Gicht. Verhandl. d. deutsch. Kongr. f. inn. Med. 1911. — Bernard Bauch, Über die Einwirkung der 2-Phenylchinolin-4-carbonsäure (Atophan) auf den Harnsäurestoffwechsel des gesunden und gichtkranken Menschen. Inaug.-Dissert. Heidelberg 1911. — E. Frank und B. Bauch, Über den Angriffspunkt des Atophans bei seiner Einwirkung auf die Harnsäureausscheidung. Berl. klin. Wochenschr. 1911, Nr. 32. — K. Fromherz, Zur Kenntnis der Wirkungsweise der Phenylcinchoninsäure auf den Purinstoffwechsel des Hundes. Biochem. Zeitschr. **35**. 5. u. 6. Heft. 1911. — G. Zuelzer, Über die Diagnose der Gicht durch Atophan. Berl. klin. Wochenschr. 1911, Nr. 47. — W. Skorczewski und J. Sohn, Über einige im Atophanharn auftretende charakteristische Reaktionen. Wien. klin. Wochenschr. 1911. Nr. 49. —E. Frank, Atophan und Harnsäure. Sitzungsber. d. Schles. Gesellsch. f. vaterländ. Kultur. Med. Klin. 1911, Nr. 50. — P. F. Richter, Über Wesen und Behandlung der Gicht. Deutsche med. Wochenschr. 1911, Nr. 51. — F. Deutsch, Über die Wirkung des Atophans bei Gesunden und Gichtkranken. Münch. med. Wochenschr. 1911, Nr. 50. — A. Schittenhelm und J. Schmid, Die Gicht und ihre Therapie. Samml. zwangloser Abhandl., herausgegeb. von Prof. Albu. **2**. Heft 7. S. 48—50. — Plehn, Zur Kenntnis der Wirkungsweise der Phenylchinolincarbonsäure (Atophan) bei chronischer Gicht. Deutsche med. Wochenschr. 1912, Nr. 3. — W. Weintraud, Weitere klin. Erfahrungen mit Atophan nebst Bemerkungen über Gicht und Harnsäurediathese. Therap. Monatsh. Jan. 1912. — Retzlaff, Über Atophantherapie bei der Gicht. Sitzungsber. d. Vereins f. inn. Med. u. Kinderheilk., Berlin. Jan. 1912. Deutsche med. Wochenschr. 1912, Nr. 9. — M. Dohrn, Über Farbreaktionen, speziell die Diazoreaktion im Atophanharn. Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 10. S. 568; Über die Wirkung des Atophans mit einem Beitrag zur Theorie der Gicht. Zeitschr. f. klin. Med. **74**. 1912.

[2]) Rockwood und Epps, Am. Journ. of phys. **19**. 97. 1907. — Fauvel, La ref. alim. 11. Subkow. Dissert. Moskau 1903. I. T. 33.

[3]) Monatsh. f. Ch. **12**. 232. 1891.

[4]) Dissert. Bonn 1898.

Digitized by Google

(Aly Zaky[1]), der Emser Kränchenbrunnen (Laqueur[2])), das Calciumchlorid bei Tier und Mensch (Lubieniecki) und Starkenstein[3])), das Atophan beim Hund und Kaninchen (Starkenstein[4]). Während das Tannin nach einigen Autoren herabsetzend wirkt[5]), wirkt es nach Ulrici gar nicht[6]) und nach Reichenau[7]) steigernd. Die Alkalien wirken nicht[8]) und ebensowenig die hippursäurebildenden Substanzen, denen man eine Zeitlang eine herabsetzende Wirkung zugeschrieben hat[9]).

2. Die exogene Ausscheidung.

Werden Purine oder purinhaltige Stoffe aufgenommen, so steigt der Purin-N des Harns um einen gewissen Betrag, den man als exogenen Harnpurinwert bezeichnet (Burian und Schur l. c.). Für die Beurteilung der exogenen Purinausscheidung und für die Auswahl von Kostordnungen mit bekanntem Puringehalt ist die Kenntnis des Purinstoffgehaltes der einzelnen Nahrungsmittel notwendig. Diesbezügliche Daten enthält die folgende Tabelle.

100 g enthalten	Purin-N			Purinbasen	Allantoin
	I.	II.	III.	IV.	
Rindfleisch	—	0,052	0,037	0,175	—
Kalbfleisch	—	0,046	0,038	0,178	—
Hammelfleisch	—	0,039	0,026	0,189	—
Schweinefleisch	—	0,048	0,041	0,181	—
Schinken	—	0,046	—	—	—
gekochter Schinken	—	—	0,025	—	—

I. R. Burian und H. Schur, Pflügers Arch. **80**. 241. 1900. II. Walker Hall, Dissert. Owens Coll. Manchester 1902. III. G. Bessau und J. Schmid, Therap. Monatsh. 1910. 116. IV. Th. Brugsch und A. Hesse, Med. Kl. 1910. 623.

Ferner hat W. Hall Tafeln zur Berechnung des Puringehalts der Speisen veröffentlicht. The Purin bodies of foodstuffs. London 1902.

[1]) C. r. soc. biol. **53**. 830. 1901.
[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1903. 50.
[3]) Unveröffentlicht.
[4]) Unveröffentlicht.
[5]) Rappoport, Diss. Bonn 1900; Dolff, Dissert. Bonn 1898.
[6]) Dissert. Marburg 1901. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **46**. 321. 1901.
[7]) Biochem. Zeitschr. **21**. 76. 1909.
[8]) Rockwood und Epps, Am. Journ. of phys. **19**. 97. 1907. — Gilardoni, Therap. Monatsh. 18. 69. 1904. — Fauvel, La ref. alim **11**. 245. 1907; vgl. auch Subkow, Dissert. Moskau 1903. J. T. 33.
[9]) Chinasäure: de la Camp, Münch. med. Wochenschr. 1901. 1203. —. A. Nikolaier und I. Hagenberg, Zentralbl. f. Stoffw. u. Verdauungskrankh. **1**. 131. 1900. — Taltavall und Gies, Am. Journ. of phys. 9. Proc. am. Phys. soc. **12**. 1903. — Ulrici, Dissert. Marburg 1901; Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **6**. 321. 1901. — Benzoesäure: Lewandowsky, Zeitschr. f. inn. Med. **40**. 202. 1900. — Hupfer, Zeitschr. f. phys. Ch. **37**. 302. 1900.

Digitized by Google

100 g enthalten	Purin-N I.	Purin-N II.	Purin-N III.	Purinbasen IV.	Allantoin
roher Schinken	—	—	0,024	—	—
Lachs-Schinken	—	—	0,057	—	—
Kalbszunge	—	—	0,055	—	—
Kaldaunen	—	0,023	—	—	—
Rehfleisch	—	0,030	—	0,182	—
Kaninchenfleisch	—	0,038	—	—	—
Fleisch	0,06	—	—	—	—
Huhn	—	0,052	0,029	0,186	—
Taube	—	—	0,058	0,154	—
Gans	—	—	0,033	—	—
Fasan	—	—	0,034	—	—
Hühner-Eier	0,00	0,01	0,000	Spur	0,00 [1])
Kabeljau	—	0,023	0,038	0,131	—
Schellfisch	—	—	0,039	—	—
Schleie	—	—	0,027	—	—
Aal, geräuchert	—	0,027	—	—	—
Lachs	—	0,047	0,024	0,201	—
Karpfen	—	—	0,054	—	—
Bückling	—	—	0,029	—	—
Zander	—	—	0,045	—	—
Hecht	—	—	0,048	—	—
Hering	—	—	0,069	—	—
Forelle	—	—	0,056	0,213	—
Sprotten	—	—	0,088	—	—
Ölsardinen	—	—	0,118	—	—
Sardellen	—	—	0,078	—	—
Anchovis	—	—	0,145	—	—
Scholle	—	0,032	—	—	—
Heilbutt	—	0,041	—	—	—
Seezunge	—	—	—	0,137	—
Kaviar	—	—	0,000	0,110	—
Hummer	—	—	0,023	—	—
Krebse	—	—	0,020	—	—
Austern	—	—	0,029	0,217	—
Froschmuskeln enthalten 0,02—0,03% Purin-N (V. Scaffidi, Bioch. Zeitschr. **30**. 473. 1911					
Leber (Rind)	0,120	0,110	0,093	0,372	—
Gehirn (Schwein)	—	—	0,028	0,233	—
Niere	—	—	0,080	0,320	—
Milz	0,160	—	—	0,320	—
Thymus	0,450	0,402	0,330	1,308	—
Lunge	—	—	0,052	—	—
Leberwurst	—	—	0,038	—	—
Braunschweigerwurst	—	—	0,010	—	—
Mortadellawurst	—	—	0,012	—	—

[1]) Acroid, H., Bio-chem. Journ. 5. 400. (1911).

Digitized by Google

100 g enthalten	Purin-N I.	Purin-N II.	Purin-N III.	Purinbasen IV.	Allantoin
Salamiwurst	—	—	0,023	—	
Blutwurst	—	—	0,000	—	—
Bouillon (100 g Fleisch)	—	—	0,015	—	—
Milch	0,005	0,01	0,000	—	vorhanden [1])
Milch-, Edamer-, Schweizer-, Tilsiter-, Gervais-Käse	—	—	0,000	—	—
Sahnekäse	—	—	0,005	—	—
Kuhkäse	—	—	0,022	—	—
Hafermehl	—	0,021	—	0,100	—
Erbsenmehl	—	0,018	0,026	0,108	reichlich [1])
Linsenmehl	—	—	0,054	—	—
Bohnen	—	0,025	0,027	—	reichlich
Weizenmehl	—	—	—	0,116	0,0 [2])
Roggenmehl	—	—	—	0,096	—
Cerealien (Gries, Graupen, Sago)	0,000	—	0,000	—	—
Tapioka	—	0,000	—	—	—
Weissbrot	Spur	—	0,000	—	Spuren [1])
Schwarzbrot	0,01	—	—	—	—
Kartoffel	0,0005	0,0007	0,002	0,019	? [2])
Zwiebel	—	0,003	0,000	—	—
Spargel	—	0,009	0,009	0,057	0,0 [2])
Kohl	0,000	0,000	—	—	—
Blumenkohl	—	0,000	—	0,078	—
Welschkraut	—	—	0,007	—	vorhanden [2])
Weisskraut, Mohrrübe	—	—	0,000	—	—
Grünkohl	—	—	0,002	—	—
Braunkohl	—	—	0,002	—	—
Kohlrabi	—	—	0,011	—	—
Kopfsalat	—	0,000	0,003	—	—
Gurken	—	—	0,000	—	—
Radieschen	—	—	0,005	—	—
Spinat	—	—	0,024	—	—
Rapunzel	—	—	0,011	—	—
Sellerie	—	—	0,005	—	—
Karoten	—	—	—	0,007	—
Weisse Bohnen	—	—	—	0,098	—
Grüne Erbsen	—	—	—	0,079	—
Schnittbohnen	—	—	0,002	Spur	—
Schoten	—	—	0,027	—	—
Obst	—	—	0,000	—	—
Steinpilze	—	—	0,018	—	—
Pfefferlinge	—	—	0,018	—	—
Morcheln	—	—	0,011	—	—
Champignon	—	—	0,005	—	—
Lagerbier	—	0,005	—	—	—
einfaches Bier	—	—	0,004	—	—
Kulmbacher Bier	—	—	0,001	—	—
Ale	—	0,006	—	—	—
Porter	—	0,006	—	—	—

[1]) Acroid l. c.
[2]) A. Scheib, unveröffentlicht.

Digitized by Google

100 g enthalten	Purin-N				Allantoin
	I.	II.	III.	IV.	
Claret	—	0,000	—	—	—
Volnay	—	0,000	—	—	—
Sherry	—	0,000	—	—	—
Portwein	—	0,000	—	—	—
Rotwein	—	—	0,000	—	—
Rum	—	—	0,000	—	—

Dem ist noch hinzuzufügen, dass Kaffee, Tee und Kakao reichliche Mengen von Purinstoffen enthalten. Hervorzuheben ist auch, dass von den Vegetabilien Bohnen, Erbsen, Hafer, Spinat u. a. nicht zu vernachlässigende Mengen von Purinen enthalten, ebenso wie gewisse Biere [1]), was die Richtigkeit der allgemeinen Annahme, dass eine vegetarische Diät purinfrei sei, einigermassen einschränkt. Von den wenigen bisher darauf untersuchten Nahrungsmitteln erwiesen sich verhältnismässig viele allantoinhaltig. Der Allantoingehalt ist insbesondere in der Milch und in den Leguminosen nicht unbeträchtlich, jedenfalls nicht zu vernachlässigen. Eine streng purinfreie Diät kann nach der gegebenen Übersicht nur aus Milch und Milchprodukten (Butter, Käse), Eiern, Zucker, Kartoffeln, Reis, Tapioca, Kohl, Kopfsalat, Weizenmehl und Weissbrot bestehen. Soll sie gleichzeitig allantoinfrei sein, so muss man sich auf Mehlspeisen, Eier, Speck und Kartoffeln beschränken und namentlich Milch vermeiden. Für die purinfreie und allantoinfreie Ernährung von Hunden und Kaninchen würde sich am besten Reis eignen, wozu bei Hunden noch Speck und Weissbrot, bei Kaninchen Weissbrot und Kohl hinzukäme.

Die Hauptmasse der mit der Nahrung aufgenommenen Purine ist in der Nucleinsäure gebunden, und dementsprechend sind es vorzugsweise die Aminopurine (s. o.), welche da in Betracht kommen. In Prozenten der Trockensubstanz enthielt Lunge: nach Kossel bestimmt 0,180 Guanin, 0,145 Adenin, 0,208 Hypoxanthin, 0,069 Xanthin; nach Burian bestimmt 0,227 Guanin, 0,232 Adenin, 0,226 Hypoxanthin, 0,059 Xanthin [2]). In einem Kilo frischen Knochenmarks vom Pferde wurden gefunden: 0,3125 Guanin, 0,1710 Adenin, 0,072 Hypoxanthin, 0,0287 Xanthin [3]). Von den verschiedenen Muskeln enthält Herzmuskel am meisten Purine, dann folgt der quergestreifte Skeletmuskel und dann die glatte Muskulatur [4]).

Aber auch freie Purine sind in den Nahrungsmitteln reichlich enthalten. Im Fleisch und Fleischextrakt Hypoxanthin und Xanthin [5]).

[1]) W. Hall, Berl. klin. Wochenschr. 1903. 868.
[2]) N. Sieber und W. Dzierzgowski, Zeitschr. f. ph. Ch. **62**. 259. 1909.
[3]) H. Thar, Biochem. Zeitschr. **23**. 43. 1909.
[4]) V. Scaffidi, Biochem. Zeitschr. **33**. 247. 1911.
[5]) Krüger, Zeitschr. f. ph. Ch. **16**. 161, 329. 1892; **18**. 423. 1894; **21**. 274. 1895/96. — K. Micko, Zeitschr. f. Unters. d. Nahr. u. Genussmittel **6**. 781; **7**. 257; **8**. 225.

Digitized by Google

Im Tee Adenin [1]). In Kaffee, Tee und Kakao die Methylxanthine: Kaffein (1-3-7-Trimethylxanthin), Theobromin (3-7-Dimethylxanthin), Theophyllin (1-3-Dimethylxanthin) und geringe Mengen von Monomethylxanthin [2]). Im Zuckerrübensaft fand H. W. Bressler Xanthin, Hypoxanthin, Adenin und Guanin [3]), im Kartoffelpresssaft E. Schulze Hypoxanthin [4]). Auch im Safte des Zuckerrohres sind freie Purine enthalten [5]), und in der Heringslake wurden Guanin, Hypoxanthin, Adenin, aber keine Methylpurine gefunden [6]).

Für die Beurteilung der Grösse der exogenen Purinausscheidung im Vergleich mit der Einfuhr sind namentlich zwei Punkte wichtig. Zunächst sind von dem N der als Nucleinsäure gebunden oder als Aminobasen frei eingeführten Purine für die Bilanz nur 80% anzusetzen, da (siehe weiter unten) der Amino-N der Aminopurine (Guanin und Adenin) im Stoffwechsel abgespalten wird. Dieser Forderung ist unter den zahlreichen Bilanzen der Literatur, abgesehen von einigen neueren Arbeiten, nur von Krüger und Schmid Rechnung getragen worden (s. u. l. c.). Dann ist die Resorptionsgrösse der Purine vom Magen-Darmkanal aus zu berücksichtigen. Der Kot des Menschen enthält immer auch bei purinfreier Ernährung Purine, und zwar nicht unerheblich (Krüger und Schittenhelm [7])); Schittenhelm fand 0,027 bis 0,258 Purin-N pro Tag [8]), C. Tollens 0,12 [9]), C. Bartoletti 0.197 [10]). Die Kotpurine sind teils frei, zum grössten Teil aber als Nucleine und Nucleinsäuren gebunden. Ein grosser Teil wird von desquamierten Darmepithelien, ein kleinerer Teil von den Bakterien des Kotes geliefert. Die Galle enthält nichts, das Pankreassekret wenig (Schittenhelm [11])). Danach kommt der Darm als Ausscheidungsort für zirkulierende Purine nicht in Betracht. Aus den Hydrolysaten des Menschenkots wurden erhalten: Guanin, Adenin, wenig Xanthin und Hypoxanthin. Harnsäure findet sich nach Schittenhelm nicht, nur im Mekonium (verschlucktes Fruchtwasser) [12]), von anderen Untersuchern wurde sie jedoch im Kot gefunden [13]). Die Basenausscheidung ist grösser als im Harn [14]). Normalerweise ist sie ziemlich konstant. Sie wird

---

1) Krüger l. c. — Micko l. c.

2) M. Albanese, Arch. di farm. e Ter. **10**. 221. 1902.

3) Zeitschr. f. ph. Ch. **41**. 535. 1904.

4) Landwirtsch. Vers. **59**. 331. 1904.

5) C. E. Shorey, Journ. of am. ch. soc. 1899. 432.

6) S. Isaac, Dissert. Strassburg 1904; Hofmeisters Beitr. z. ch. Phys. u. Path. **5**. 500. 1904.

7) Zeitschr. f. ph. Ch. **35**. 153. 1902.

8) Arch. f. kl. Med. **81**. 423. 1904.

9) Zeitschr. f. inn. Med. **25**. 761.

10) Riv. crit. di cl. med. 1905. Nr. 50 (durch J. T. 36).

11) Arch. f. klin. Med **81**. l. c.

12) Arch. f. klin. Med. **81** l. c. und **89**. 266. 1906.

13) Anselm Bellot, Thèse de Lyon 1906 (J. T. **37**. 388). — Fr. Galdi, Il policlin. (1905) **12**. fasc. 34 (J. T. **35**. 442). — Bartoletti, l. c.

14) Krüger u. Schittenhelm, Zeitschr. f. ph. Ch. **35**. 153. 1992.

Digitized by Google

vermehrt durch schlackenreiche Nahrung (Zunahme der Kotpurine mit dem Trockengehalt der Fäzes), durch Diarrhöe und Pankreaserkrankung, vermindert durch Obstipation (Darmfäulnis) (Schittenhelm[1])). Bei Leukämie fand Schittenhelm (l. c.) normale Werte, andere eine Vermehrung[2]). Insbesondere steigt aber der Purinwert des Kots nach Einnahme von purinhaltigen Nahrungsmitteln und noch mehr nach Einnahme von freien Purinen. Ein beträchtlicher Teil der genossenen Purine wird also nicht resorbiert. I. W. Hall[3]) fand von verfüttertem Guanin beim Menschen 62—65% im Kote wieder, nach Thymuszulage betrug der Kot-Purin-N 0,177 gegen 0,01 in der Norm. Doch kann aus dem Puringehalte der Fäzes die Resorptionsgrösse nicht eindeutig erschlossen werden, da die Purine der Zersetzung durch die Darmbakterien sehr zugänglich sind[4]) und bei dieser Zersetzung der Purinring gespalten wird. — Schliesslich wird man auch mit der Möglichkeit einer Deponierung wenigstens gewisser Purine (Harnsäure) irgendwo im Körper rechnen müssen.

Von dem in den freien und gebundenen Purinen per os aufgenommenen N wird vom Menschen nur ein und zwar sehr wechselnder Anteil im Harn in Form von Purinstoffen ausgeschieden. Auch wenn man die mit dem Kote ausgeschiedenen Purine in Rechnung setzt, ist die Ausscheidung nur unvollständig. Die untersuchten anderen Säugetiere scheiden dagegen den aufgenommenen Purin-N vollständig und zwar so gut wie ausschliesslich im Harn aus.

Vom Stickstoff aufgenommener Purinstoffe wurde im Harn als Purin-N ausgeschieden:

I. Beim Menschen.

Adenin, per os	45 %	M. Krüger u. I. Schmid[5])	
	41 und 33 %	L. B. Mendel u. Lyman[6])	
	50 % (Gicht)	Brugsch u. Schittenhelm[7])	
Guanin, per os . . .	0 %	Krüger u. Schmid[5])	
	(51 % in den Fäzes)	W. Hall[8])	
	22 % u. 34 %	Mendel u. Lyman[6])	
	0 % (Gicht)	Brugsch u. Schittenhelm[7])	
	29 % (Alkoholismus)	Rotky[9])	Unter Berücksichtigung der Resorption.
	76 % (Diabetes)	„	
	87 % (Polyurie)	„	

[1]) Schittenhelm, Arch. f. klin. Med. 81. 423. 1904.

[2]) Bartoletti, l. c. Vas Zeitschr. f. klin. Med. 68. Heft 1/2. 1909.

[3]) Journ. of Path. und Bact. 2. 246. 1905.

[4]) Schittenhelm, Zeitschr. f. ph. Ch. 39. 199. 1903. — Schittenhelm und Schrotter, Zeitschr. f. Stoffw. u. Verdauungskrankh. 6. 319. 1905.

[5]) Zeitschr. f. phys. Ch. 34. 549. 1902.

[6]) Journ. biol. Chem. 8. 115. 1910.

[7]) Zeitschr. f. exp. Path. u. Therap. 5. 215. 1908.

[8]) Dissert. Manchester 1902.

[9]) Deutsch. Arch. f. kl. Med. 98. 540. 1910.

Digitized by Google

Hypoxanthin, per os	46—66 %	Hall[1]), Burian u. Schur[2]), Minkowski[3]), Krüger und Schmid (l. c.)
	59—68 %	Mendel u. Lyman (l. c.)
	13 % (Gicht)	Brugsch u. Schittenhelm (l. c.)
	62 % (Leukämie)	Rotky (l. c.)
	38 % (Nephritis)	„
	64—92 %	Landau[4])
Xanthin, per os	0 %	Rzentkowski[5])
	10 %	Krüger u. Schmid (l. c.)
	47 u. 55 %	Mendel u. Lyman (l. c.)
	43 %	Burian u. Schur (l. c.), Unter Berücksichtigung der Ausscheidung in den Fäzes.
Xanthin-Natrium, per os	0,7 %, 13 %, 38 % (27 % in den Fäzes), 70 %, 76 %, 42 %	Lewinthal[6])
intravenös	89 %	„
Harnsäure, per os	0	Ibrahim u. Soetbeer[7])
subkutan	75—90 %	Dieselben, ebenda
„	61—82 %	Wiechowski[8])
intramuskulär	80 %	Benczur[9])
intravenös	100 %	Umber[10])
Coffein, per os	35—40 %	Burian u. Schur (l. c.)
	36 %	Lewinthal (l. c.)
subkutan	14 %	„
Allantoin, subkutan	88,3 %	Wiechowski (l. c.)
„ per os	34,4 %	„
Nucleinsäure, per os	41—56 %	Bloch[11])
	7 %, 13 %, 42 %	
Unter Berücksichtigung der Ausscheidung mit den Fäzes:	9 %, 16 %, 54 %	Frank u. Schittenhelm[12])
Fleisch	50 %	Burian u. Schur, l. c.
Unter Berücksichtigung der Ausscheidung in den Fäzes	47—68 %	„ „
	53—63 %	Hall, l. c.
	54—68 %	Kaufmann u. Mohr[13])

[1]) l. c.
[2]) Pflügers Arch. **80**. 241. 1900 u. **87**. 239. 1901.
[3]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. **95**.
[4]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **42**. 375. 1898.
[5]) Arch. f. Verdauungskrankh. **11**. 440. 1905.
[6]) Zeitschr. f. phys. Ch. **77**. 259. 1912.
[7]) Zeitschr. f. phys. Ch. **35**. 1. 1902.
[8]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **60**. 185. 1909.
[9]) Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. **7**. 339. 1909.
[10]) Kongress f. inn. Med. vgl. auch Frank u. Bauch. Berl. klin. Wochenschrift **48**. 1463. 1911.
[11]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. **83**. 500. 1905.
[12]) Zeitschr. f. phys. Ch. **63**. 269. 1909.
[13]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. **74**. 121. 1902.

Digitized by Google

Thymus	54—68 %	Kaufmann u. Mohr, l. c.
	8 % (3 % Gicht)	Lewinthal, l. c.
Leber u. Pankreas . . .	50 %	Burian u. Schur, l. c.
Leguminosen	46—66 %	Fauvel [1])
	45—56 %	Hall, l. c.
Heringsroggen	10 %	Plimmer, Dick u. Lieb [2])

II. Beim Hund.

Hypoxanthin	80 %	Minkowski, l. c.
Harnsäure, subkutan . .	100 %	Wiechowski [3])
Nucleinsäure, per os . .	123 %, 114 %, 109%, 119 % [4])	Schittenhelm [5])
	72—88 %	Hirokawa [6])
	25 % (Bleivergiftung)	„
Theobromin, per os . .	55 %	Krüger u. Schmidt [7])
Allantoin, subkutan . .	100 %	Minkowski, (l. c.) Poduschka [8])

III. Kaninchen.

Harnsäure, subkutan .	50 %	Wiechowski [3])
intravenös	80 %	Schittenhelm u. Seisser [9])
Allantoin, intravenös .	100 %	Dieselben, ebenda
Nucleinsäure, per os .	45—50 %	„ „
	100 %	„ „
Xanthin, intravenös . .	75 % (ohne Allantoin)	Lewinthal, l. c.
Theobromin, per os . .	25—31 %	Krüger u. Schmidt [10])

IV. Schwein.

Nucleinsäure, per os . .	83 %, 129 %, 94 % [4])	Schittenhelm [11])

Die Kurve der endogenen Purinausscheidung zeigt nach Zufuhr von purinhaltiger Nahrung einen raschen Anstieg, der in der fünften

[1]) C. r. ac. des sc. **143**. 72. 1906.
[2]) Journ. of phys. **39**. 98. 1909.
[3]) Beitr. z. ch. Phys. u. Path. Herausgeg. v. Fr. Hofmeister. **11**. 109. 1907.
[4]) Diese Zahlen sind aus den Angaben der Arbeiten so berechnet, dass nur 80 % des Purin-N der verfütterten Nucleinsäure als Aufnahme angesetzt wurden. (s. o.). Die in den beiden Arbeiten angegebenen Zahlen lauten für den Hund: 102 %, 92 %, 88 %, 98 %; für das Schwein: 66 %, 96 %, 75 %.
[5]) Zeitschr. f. phys. Ch. **62**. 80. 1909.
[6]) Biochem. Zeitschr. **26**. 441. 1910.
[7]) B. B. **32**. 2677.
[8]) Arch f. exp. Path. u. Pharm. **44**. 59.
[9]) Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. **7**. 116. 1909.
[10]) B. B. **32**. 2677 u. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **45**. 259. 1901.
[11]) Zeitschr. f. phys. Ch. **66**. 53. 1910.

Digitized by Google

Stunde sein Maximum erreicht, während das Maximum der N-Ausscheidung in die achte Stunde fällt (Mareš, Arch. slav., l. c., Pfeil l. c.). Mareš hält dieses Verhalten für einen Ausdruck der Purinvermehrung durch Verdauungsarbeit, die bei der Bewältigung von purinreichen Nahrungsstoffen besonders hochgradig sein soll (Pflügers Archiv, l. c.). Nach mässiger Aufnahme ist die exogene Purinausscheidung in 6—8 Stunden beendet (W. Hall, l. c.), kann aber nach sehr grosser Zufuhr bis zum 3.—5. Tage andauern (Burian und Schur[1]) und Bloch[2])).

Bei der Gicht ist die exogene Purinausscheidung verzögert[3]). Intravenös injizierte Harnsäure wird im Gegensatz zum Gesunden nur zu einem Teil ausgeschieden (Umber, l. c.), ebenso beim chronischen Alkoholismus[4]) und manchmal bei Lebercirrhose[5]), Chinin und Tannin sollen die exogene Purinausscheidung nach Thymusgenuss verhindern[6]). Alkohol während der Mahlzeit genossen steigert nach Chittenden u. Beebe die Harnsäureausscheidung, während er im nüchternen Zustande nicht wirkt (s. o.) oder gar die Purinausfuhr einschränkt[7]). Nach neueren Untersuchungen soll das Atophan auch die exogene Purinausscheidung des Menschen vermehren[8]). Hirokawa fand sie beim Hunde während schwerer Bleivergiftung stark herabgesetzt[9]).

Aus den Daten für die Grösse der exogenen Purinausscheidung muss der Schluss gezogen werden, dass (bei schlechter Resorption der Purine aus dem Verdauungskanal beim Menschen) die in den Kreislauf gelangenden Purine (abgesehen von den methylierten Xanthinen) als solche unangreifbar sind und so gut wie quantitativ im Harn ausgeschieden werden (W. Wiechowski[10]), Siven[11])). Dafür spricht auch die individuelle Konstanz der endogenen Harnpurinausscheidung. Der endogene Purinstoffwechsel ist vom exogenen völlig unabhängig; der letztere addiert sich einfach zu ersterem (Siven, l. c.).

---

1) l. c.

2) Arch. f. klin. Med. **83**. 517, 1905.

3) Brugsch und Schittenhelm, Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. **4**. 480. 1907 — Vogt, Reach, Kaufmann und Mohr, Brugsch, Nirschstein, Besser; zit. nach Umber, Therap. d. Gegenw. Febr. 1909.

4) Landau, Arch. f. klin. Med. **95**. 280. 1909. — Schittenhelm, Zeitschr. f. exp. Ch. **62**. 97. 1909. — L. Pollak, Arch. f. klin. Med. **88**. 224. 1907.

5) B. Bloch, Ebenda, **93**. 499. 1903.

6) R. Daniel, Dissert. Bonn 1898.

7) Am. Journ. of ph. 9. Proc. of the am. phys. soc. **5**. 1903.

8) Ausscheidung injizierter Harnsäure beim Menschen, Frank und Bauch, Berl. klin. Wochenschr. **48**. 1463. 1911. — Purinausscheidung nach Nukleinsäurezufuhr, dieselben. — Bauch, Diss. Heidelberg 1911. Arch. f. Verdauungskrankh. **17**. 1911. — Deutsch, Münch. med. Wochenschr. 1911. Nr. 50. — Frank und Przedborski, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **68**. 349. 1912. Nach Hypoxanthinfütterung dieselben, ebenda.

9) l. c.

10) Biochem. Zeitschr. **19**. 377. 1909.

11) Pflügers Arch. **145**. 297. 1912.

Digitized by Google

Der Organismus braucht keine exogenen Purine. Ein Ansatz — wie beim Eiweiss — findet nicht statt.

Der obige für das Studium des Purinhaushalts ausschlaggebende Schluss ist gegenwärtig noch nicht allgemein, aber von vielen anerkannt. Insbesondere stehen Brugsch und Schittenhelm noch auf dem Boden der alten Annahme, dass die Purinstoffe beim Menschen zu Harnstoff oxydiert werden und nur zu dem Bruchteil, der nach Nucleinsäurefütterung von deren Purin-N als solcher im Harn erscheint, der Umwandlung zu Harnstoff entgehen. — Die Annahme von Burian und Schur jedoch, dass von den aufgenommenen und im Organismus gebildeten Purinen ein für die einzelnen Säugetierarten spezifischer, konstanter Bruchteil (Integrativfaktor) zerstört werde, ist wohl endgültig aufgegeben.

3. Die Verteilung der Purinstoffe im Harn und ihr Schicksal im Organismus.

Die Gesamtpurinausscheidung lässt sich in drei Gruppen sondern, welche verschiedene Oxydationsstufen darstellen: Basen (Adenin-Hypoxanthin, Guanin-Xanthin) — die Methylxanthine sind als rein exogen und weil sie ausserdem ein anderes Schicksal haben ausser Betracht gelassen —, Harnsäure und Allantoin. Die Verteilung der Gesamtpurinausscheidung auf diese drei Gruppen ist bei den verschiedenen Säugetierarten nicht gleich. Es lassen sich in dieser Beziehung zunächst zwei scharf getrennte Abteilungen unterscheiden. (Soweit die einzelnen Säugetiere untersucht sind.) Die eine bildet der Mensch und die anthropoiden Affen, die andere alle anderen Säugetiere mit Einschluss der niedrigen Affen.

Beim Menschen und den anthropoiden Affen (untersucht ist der Schimpanse, Troglodytes niger)[1]) wird die Hauptmenge der Harnpurine, ca. 90% und mehr, von der Harnsäure gebildet. Allantoin und Basen werden nur in sehr geringer Menge ausgeschieden. — Bei den übrigen Säugetieren wird die Hauptmenge der Purinausscheidung vom Allantoin gebildet, Harnsäure und Basen treten ganz zurück[1]). Praktisch wird also die Gesamt-Purinausscheidung beim Menschen und Anthropoiden von der Harnsäure, bei den übrigen Säugern vom Allantoin dargestellt. Der Purinstoffwechsel ist daher beim Menschen an der Harnsäure, bei den übrigen Säugetieren dagegen am Allantoin zu studieren und nicht — wie dies noch gegenwärtig mitunter geschieht — auch an der Harnsäure.

Der geringe, von der Harnsäure übrig gelassene Purinrest verteilt sich beim Menschen derart, dass die Basen das Allantoin überwiegen. Ja es ist noch nicht ganz sichergestellt, ob die geringen Allantoinmengen des

[1]) W. Wiechowski, Festschrift für v. Jaksch. Prager med. Wochenschr. 37. 1912. Nr. 22.

Digitized by Google

Menschenharns nicht rein exogenen Ursprungs sind (siehe weiter unten bei Allantoin), und in den Proben Schimpansenharns, die ich untersuchen konnte, habe ich überhaupt kein Allantoin gefunden (was allerdings nur beweist, dass die Menge sehr gering war). Unter den Basen wiederum überwiegen die Oxypurine weitaus über die primären Bausteine der Nucleinsäure, die Aminopurine, und unter den Oxypurinen nimmt die höchste Oxydationsstufe, das Xanthin, an Masse die erste Stelle ein.

In der Abteilung der übrigen Säugetiere verteilt sich der nach Abzug des Allantoins bleibende geringe Rest der Gesamt-Purinausscheidung auf Harnsäure und Basen in einer bei den einzelnen Arten verschiedenen Weise. Es lassen sich da zwei Typen unterscheiden; eine solche, bei der die Harnsäureausscheidung überwiegt und eine, bei der die Basenausscheidung überwiegt. Zu der letzteren gehört das Schwein und das Pferd [1]), zu der ersteren das Rind [1]), das Kaninchen und der Hund.

Nach dem oben gezogenen Schlusse, dass die Purinausscheidung quantitativ sei, muss die Verteilung der Purine auf die einzelnen Gruppen ein genaues Bild des intermediären Purinstoffwechsels der einzelnen Säugetierarten sein. Dass die höchste Oxydationsstufe in grösster Menge vorhanden ist und unter den niedrigeren Oxydationsstufen wieder die höheren überwiegen, spricht für einen allmählichen Abbau und kennzeichnet die in geringerer Menge ausgeschiedenen Purine als intermediäre Produkte. In der Tat stimmen alle Befunde, die man sonst beim Studium des Purinstoffwechsels gemacht hat, mit den Schlüssen überein, die man aus der Verteilung der Purinsubstanzen im Harn ableiten kann.

Zunächst ist die Verteilung der Purine im Harn bei purinhaltiger Kost die gleiche wie bei purinfreier [2]) (abgesehen von den eine andere Stellung einnehmenden Methylxanthinen), d. h. die exogenen Purine unterliegen dem gleichen Schicksal wie die endogenen, soweit sie in den Kreislauf gelangen. Immer ist beim Menschen die Harnsäure, beim Säugetier sonst das Allantoin vermehrt [3]).

Es konnte ferner ein stufenweiser Abbau der Aminobasen zu Oxybasen, der Oxybasen zu Harnsäure, der Harnsäure zu Allantoin beim Studium der Wirkungen von überlebenden Organen auf die Purinstoffe in allen Einzelheiten beobachtet werden. Es zeigte sich, dass jeder Oxydationsstufe eine bestimmte Fermentleistung im Überlebendversuche entspricht: Adenase, Guanase, Xanthinoxydase, Uricooxydase.

[1]) A. Schittenhelm und E. Bendix, Zeitschr. f. ph. Ch. **48**. 140. 1906. — Schittenhelm, ebenda, **46**. 354. 1905. — Laf. B. Mendel und Lymann, Journ. of biol. Ch. 8. 115. 1910.

[2]) Burian u. Schur, Pflügers Arch. **80**. l. c.

[3]) Schittenhelm, Zeitschr. f. ph. Ch. **62**. 86. 1909. — Schittenhelm und Seisser, Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. **7**. 116. 1909. — Mendel, Underhill und White, Am. Journ. of ph. 8. 377. 1903.

Digitized by Google

Diese Fermente sind bei den einzelnen Säugetieren auf die verschiedenen Organe in verschiedener Weise verteilt (vgl. die unter Benützung von Schittenhelms Zusammenstellung in Oppenheimers

		Guanase	Adenase	Xanthin-Oxydase	Urikooxy-dase
Leber	Mensch	+	−	+	−
	Rind	+	+	+	+
	Schwein	− Guanosin-desamidase +	+	+	+
	Hund	+	− Adenosin-desamidase +	−	+
	Kaninchen	+	−	+	+
Muskel	Mensch	+	−	−	−
	Rind	+	+	+	+
	Schwein	+	+	−	−
	Hund	+	−	−	−
	Kaninchen				
Niere	Mensch	+	+	−	−
	Rind	+	+	+	+
	Schwein	+		−	−
	Hund				−
	Kaninchen				−
Darm	Mensch	+	+	+	−
	Rind	+	+	+	−
	Schwein	+	+	−	−
	Hund	+	−	+	−
	Kaninchen				
Milz	Mensch	+	−	−	−
	Rind	+	+	+	−
	Schwein	−	+	−	−
	Hund	+	+	+	−
	Kaninchen				
Lunge	Mensch	+	+	−	−
	Rind	+	+	+	−
	Schwein	+	+	−	−
	Hund	+	+	+	−
	Kaninchen	+			−
Thymus	Rind	+	+	+	
Pankreas	Rind	+ Guanosin-desamidase −	+ Adenosin-desamidase +	+	
	Schwein	+ Guanosin-desamidase −	+ Adenosin-desamidase −	−	−
	Hund			−	

Digitized by Google

Handbuch der Biochemie angefertigte Tabelle S. 927 [1])) und entstehen wahrscheinlich, indem sie damit ihre Individualität beweisen, in verschiedener Reihenfolge im Verlaufe der embryonalen Entwickelung [2]).

Hierzu ist zu bemerken, dass der Adenasegehalt der menschlichen Organe unsicher ist; nach Jones enthalten die Organe des Menschen überhaupt keine Adenase.

Mit der Gruppierung der Purine im Harn der Säugetiere steht in bestem Einklange, dass Harnsäureoxydase in irgend einem Organe jedes der untersuchten Tiere vorhanden ist, während in keinem Organe des Menschen Uricooxydase gefunden werden konnte [3]). Dagegen scheint das Fehlen der Adenase zunächst dem Verständnisse Schwierigkeiten zu bereiten, denn im Harn wird kein Adenin ausgeschieden, wiewohl es in den Nucleinsäuren des Organismus reichlich vorhanden ist. Dieses Verhalten ist durch die Entdeckung der Adenosindesamidase (Jones) erklärlich geworden. Es ist anzunehmen, dass dieses inosinbildende Ferment auch in menschlichen Organen vorhanden ist.

Schliesslich entspricht das Schicksal der von aussen in den Organismus eingeführten freien Purine (soweit untersucht) vollständig den aus der Verteilung der endogenen Harnpurine für den intermediären Stoffwechsel gezogenen Schlüssen. Von den diesbezüglichen Versuchen sind diejenigen besonders wichtig, welche das Schicksal subkutan oder intravenös eingespritzter Harnsäure betreffen. Beim Menschen wird danach die eingeführte Harnsäure unverändert, beim übrigen Säugetier dagegen das Allantoin ausgeschieden [4]). Schon früher wurde festgestellt, dass nach Injektion von freien Purinen beim Tier keine Harn-

---

[1]) Horbaczewski, Monatsh. f. h. **10**. 624. 1889; **12**. 221. 1891. — Chassevant et Richet, C. r. soc. biol. **48**. 743. 1896. — Jakoby, Virch. Arch. **157**. 235. 1899. — Spitzer, Pflügers Arch. **76**. 192. 1899. — H. Wiener, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **42**. 375. 1899. — Burian, Zeitschr. f. ph. Ch. **43**. 497. 1904/05. — Schittenhelm, Zeitschr. f. ph. Ch. **46**. 354. 1905; **45**. 121. 1905. — Schittenhelm u. Schmid, ebenda, **50**. 30. 1906/07; Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. **4**. 424. 1907. — Schittenhelm u. Künzel, Zentralbl. f. d. ges. Phys. u. Path. d. Stoffw. 1908. Nr. 19. 721. — Schittenhelm, ebenda, **4**. 801. 1909; Zeitschr. f. ph. Ch. **63**. 248. 1909. — Jones u. Partridge, Zeitschr. f. ph. Ch. **42**. 343. 1904. — Jones, ebenda **45**. 84. 1905. — Jones u. Austrian, ebenda, **48**. 110. 1906. — Jones u. Winternitz, ebenda, **60**. 180. 1909; **44**. 1. 1905. — Jones u. Müller, ebenda, **61**. 395. 1909. — Wiechowski, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **60**. 185. 1909. — Wiechowski u. Wiener, Hofmeisters Beitr. z. ch. Phys. u. Path. **9**. 247. 1907. — Battelli u. Stern, Biochem. Zeitschr. **19**. 219. 1909. — Amberg u. Jones, Zeitschr. f. ph. Ch. **73**. 407. 1911. — Jones, Journ. of biol. Ch. **9**. 169. 1911.

[2]) Mendel u. Mitchel, ebenda, **20**. 97. 1907. — Jones and Austrian, Journ. of biol. Ch. **3**. 227. 1907.

[3]) Wiechowski, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **60**. 197. 1909. Hier auch die Kritik der abweichenden Versuche von Croftan. Pfeiffer und Schittenhelm, worüber im Kapitel Harnsäure näheres zu finden ist, vgl. auch Schittenhelm, Zeitschr. f. ph. Ch. **63**. 248. 1909.

[4]) Wiechowski, l. c. und Hofmeisters Beitr. z. ch. Ph. u. Path. **11**. 109. 1907. Mendel u. White, Am. Journ. of phys. **12**. 85. 1904.

Digitized by Google

säure ausgeschieden wird [1]). Das merkwürdige Verhalten des Adenins hierbei, welches sich als schweres Gift erwies und zur Ausscheidung eines sonst im Organismus nicht beobachteten Purinstoffes (6-Amino-2-8-Dioxypurin) Veranlassung gibt [2]), kann dadurch erklärt werden, dass im Organismus freies Adenin überhaupt in der Norm nicht auftritt, indem aus der Nucleinsäure zunächst Adenosin, aus diesem nach Desaminierung Inosin und aus diesem Hypoxanthin gebildet wird.

Die Bestimmung des Verhältnisses der Glieder der Gesamt-Purinausscheidung gestattet also unmittelbar einen Schluss auf die Besonderheit des Purinstoffwechsels in einem vorliegenden Falle zu ziehen. Hiernach müsste man für jene Säugetiere (s. o.), bei denen sich der neben dem Allantoin verbleibende Purinrest derart verteilt, dass überwiegend Basen und weniger Harnsäure ausgeschieden wird, annehmen, dass Allantoin entweder direkt, ohne die Harnsäurestufe zu passieren, aus den Basen entstehen kann, oder dass die Oxydation zu Harnsäure langsamer erfolgt als die Oxydation der Harnsäure zu Allantoin.

Die spezifische Relation zwischen den Gliedern der Purinausscheidung schwankt bei den verschiedenen Säugetierarten individuell nur sehr wenig. Insbesondere wird das Verhältnis Gesamt-Purin-N zu Harnsäure-N beim Menschen und das Verhältnis Gesamt-Purin-N zu Allantoin-N bei den übrigen Säugetieren mit grosser Zähigkeit festgehalten. Ich habe mich davon überzeugt, dass wenigstens, soweit die endogene Ausscheidung in Betracht kommt, es kaum gelingt, durch Vergiftung oder sonstige Massnahmen beim Kaninchen und Hund eine Oxydationshemmung im Sinne einer vermehrten Harnsäureausscheidung und verminderten Allantoinausscheidung zu erzielen (Blausäure, Narkose, Blei, Schilddrüsenexstirpation [3])). Mendel und White geben an, dass Sulfonal und Chinin-Vergiftung die Allantoinbildung aus injizierter Harnsäure verhindere, sie haben aber mit einer unzulänglichen Allantoinbestimmungsmethode gearbeitet, so dass die Frage noch als unbeantwortet gelten muss [4]). Bei lang dauernder Nucleinsäurefütterung sah Hirokawa beim Hunde das Verhältnis sich zugunsten der Harnsäure verschieben [5]). Im selben Sinne spricht eine Beobachtung von mir und Wiener. Nach langdauernder ausschliesslicher Fütterung mit Kalbsbries zeigte die Leber eines Hundes einen auffallend geringen Gehalt an Harnsäureoxydase [6]).

Diuresesteigerung soll beim Hunde zu einer vermehrten Harnsäure-

[1]) Schittenhelm, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **47**. 432. — Schittenhelm u. Bendix, Zeitschr. f. ph. Ch. **42**. 461. 1904.

[2]) Minkowski, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **42**. 375. 1898; Deutsche med. Wochenschr. **28**. 499. 1902. — A. Nicolaier, Zeitschr. f. klin. Med. **45**. 359. 1902. — Krüger, Münch. med. Wochenschr. 1903. 741.

[3]) Unveröffentlicht.

[4]) Am. Journ. of ph. **12**. 85. 1904.

[5]) Biochem. Zeitschr. **26**. 441. 1900.

[6]) Unveröffentlicht.

Digitized by Google

ausfuhr Veranlassung geben, im Gegensatz zum Menschen [1]); die Gesamt-Purinausscheidung der Kaninchen ist bei der Steigerung der Diurese wenigstens für die Tagesmenge nicht vermehrt [2]); es könnte sich daher bei der Beobachtung von Burian und Schur um durch die Diurese bewirkte beschleunigte Ausscheidung intermediärer Produkte (das ist die Harnsäure beim Hunde) handeln.

Beim Menschen ist das Verhältnis Harnsäure-N zu Basen-N (besser wäre es, das Verhältnis Gesamt-Purin-N zu Harnsäure-N anzugeben) durchschnittlich 10:1. Es schwankt bei Gesunden zwischen 6:1 und 14:1 und ist beim einzelnen ziemlich konstant. Bei der Gicht hat es die Tendenz niedrig zu liegen, es scheinen also die Basen leichter ausgeschieden zu werden als die Harnsäure [3]). Rotky fand bei Nephritis, Diabetes und Polyurie weit mehr Basen als Harnsäure [4]). Der Befund bei Polyurie lässt sich im obigen Sinne (vermehrte Ausscheidung intermediärer Produkte) deuten. Zur Beurteilung der Befunde bei Gicht, Nephritis und Diabetes wird man in Betracht ziehen müssen, dass die Harnsäure wegen ihrer Schwerlöslichkeit wohl auch am schwersten von allen Purinen ausgeschieden wird. Die Verschiebung des Verhältnisses kann daher durch Retention der Harnsäure bedingt sein, ohne dass eine Stoffwechselstörung vorliegen müsste. — Bei der Vermehrung der Gesamt-Purinausscheidung durch Muskeltätigkeit sind die Basen im Anfang mehr gesteigert als die Harnsäure [5]).

Einer besonderen Besprechung bedarf noch das Verhalten der methylierten Xanthine. Zunächst ist hervorzuheben, dass sie im Säugetierorganismus nicht entstehen und ihr Auftreten im Harn lediglich mit der Aufnahme in der Nahrung zusammenhängt. In den sie enthaltenden Genussmitteln kommen sie, so weit bekannt, nur in freiem Zustande vor. Doch beobachteten Salomon und Neuberg [6]) in 25 Liter normalen Harns eines Hundes, der ausschliesslich mit Fleisch gefüttert war, und also keine Methylpurine zu sich genommen haben sollte, das Vorhandensein von Heteroxanthin. Ferner ist bemerkenswert, dass zum Unterschied von den Amino- und Oxypurinen die Methylpurine im allgemeinen nicht zu einer Harnsäuresteigerung beim Menschen bzw. einer vermehrten Allantoinausscheidung bei den übrigen Säugetieren Veranlassung geben. Doch gilt auch dieser Satz nicht unbedingt. Eine geringfügige Steigerung von Harnsäure bzw. Allantoin wurde doch konstatiert [7]).

Das Wesentliche des Schicksals der Methylxanthine ist eine stufenweise Entmethylierung, die schliesslich zu einem Monomethylxanthin führt. Es entstehen alle theoretisch möglichen Monomethylxanthine.

---

[1]) Burian u. Schur, Pflügers Arch., l. c.
[2]) Unveröffentlicht.
[3]) Brugsch u. Schittenhelm, Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. 4. 517. 1907.
[4]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. **98**. 540. 1910.
[5]) Burian, Zeitschr. f. ph. Ch. **43**. 532. 1904.
[6]) Salkowski-Festschrift. 37.
[7]) Krüger u. Schmid, Zeitschr. f. ph. Ch. **32**. 104. — Schittenhelm, Therap. Monatsh. 1910. 113. — Valenti, Arch. ital. de biol. **53**. 86. 1911.

Digitized by Google

Bei den einzelnen Säugetierarten erweist sich aber die Methylgruppe einer bestimmten Stellung immer besonders bevorzugt. Die Monomethylxanthine werden nur sehr schwer abgebaut.

Nach Kaffein- (1-3-7-Trimethylxanthin-) Zufuhr werden ausgeschieden[1]) beim Hunde: Kaffein, 3-7-Dimethylxanthin (Theobromin), 1-3-Dimethylxanthin (Theophyllin), 1-7-Dimethylxanthin (Paraxanthin) und 3-Monomethylxanthin. Am meisten wird Theophyllin ausgeschieden. Der Abbau greift an allen drei Methylgruppen an, am wenigsten widerstandsfähig erweist sich die 7-Methylgruppe. — Beim Kaninchen: viel Theobromin, daneben Theophyllin, Paraxanthin und 7-Monomethylxanthin. Hier ist also die 3-Methylgruppe am wenigsten widerstandsfähig; beim Menschen: am meisten Theophyllin, aber auch 7- und 1-Monomethylxanthin. Beim Vogel geht Kaffein zu rund 10% in Harnsäure über[2]).

Nach Theobromin (3-7-Dimethylxanthin)[3]) werden von Hund und Kaninchen beide Monomethylxanthine: 3-Methylxanthin und Heteroxanthin (7-Methylxanthin) ausgeschieden. Das Kaninchen scheidet mehr Heteroxanthin aus, der Hund mehr 3-Methylxanthin. Auch der Mensch scheidet nach Theobromineinnahme Heteroxanthin aus.

Nach Theophyllin(1-3-Dimethylxanthin)eingabe scheidet der Hund 3-Methylxanthin aus[4]).

Nach Paraxanthin(1-7-Dimethylxanthin)fütterung erscheint im Harn des Kaninchens 1-Methylxanthin[5]), nach 8-Dimethylamino-Paraxanthin beim Menschen 8-Dimethylamino-Heteroxanthin[6]).

Das 3-Methylxanthin wird vom Kaninchen zu einem Teil unverändert ausgeschieden[7]).

An der Entmethylierung und dem totalen Abbau — zum Unterschiede von den körpereigenen Purinen scheinen die Methylxanthine zum Teil einer völligen Zerstörung im Säugetierorganismus zu unterliegen — sind beteiligt: Blut, Leber, Niere, Milz, Lunge und Muskel[8]).

II. Allgemeine Eigenschaften. Die konstitutiven Beziehungen der Purinstoffe und des Allantoins untereinander sind oben gegeben worden, sowie auch das damit in Übereinstimmung stehende Schicksal der Purine im Säugetier: einerseits Desaminierung und sukzessive Oxydation über Harnsäure zu Allantoin, andererseits sukzessive Entmethylierung bis zum Xanthin. Entsprechend der konstitutiven Ver-

---

[1]) Albanese, B.B. **32**. 2280. — Krüger, B.B. **32**. 2818. 3336; **33**. 3665.

[2]) Valentini, Boll. soc. med. chir. di Pavia. Febr. 1900.

[3]) Krüger u. Schmid, B.B. **32**. 2677; Zeitschr. f. ph. Ch. **36**. 1. 1902; Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **45**. 259. 1901. — Schmid, Dissert. Berlin 1904.

[4]) Gottlieb u. Bondzynski, nach J. T. **25**. 90.

[5]) Schmid, Dissert. Berlin 1904.

[6]) Forschbach und Weber, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **56**. 186. 1907.

[7]) Krüger und Schmid, B. B. **32**. 2677. — Schmid, Dissert. Berlin 1904.

[8]) Schmid, Zeitschr. f. ph. Ch. **67**. 155. 1910. — A. Valentini, Boll. d. soc. med. chir. Pavia, 1909, Juli. — Albanese, Arch. di farm. e sc. aff. 1903. 352.

Digitized by Google

wandtschaft haben die Purine eine Reihe von Eigenschaften gemeinsam, die im folgenden angegeben sind. Das Allantoin dagegen, welches in physiologischer Beziehung die nächsten Beziehungen zu den Purinstoffen hat, verhält sich in chemischer Beziehung — da es ja auch infolge Sprengung des Pyrimidinringes nicht mehr den charakteristischen geschlossenen 9gliedrigen Purinkomplex aufweist — ganz anders. Seine Reaktionen weisen ihm eher einen Platz neben dem Harnstoff an. Es ist von der folgenden allgemeinen Übersicht über die Eigenschaften der Purinstoffe ausgeschlossen.

1. Die Synthese der Purinstoffe wurde auf zwei Wegen erreicht. Emil Fischer geht vom Trichlorpurin aus (s. o. S. 905), welches sich einerseits weitgehend methylieren lässt und andererseits die Chloratome gegen NH_2, OH und H-Gruppen auszutauschen imstande ist. W. Traube geht vom Cyanacetyl-Harnstoff von Mulder aus, bzw. von den analog aus Thio- oder Imido-Harnstoff (Guanidin), Cyanessigester und Phosphoroxychlorid erhaltenen Verbindungen, welche beim Stehen mit Alkalien in 4-Aminopyrimidine übergehen. Die hierauf mit Salpetrigsäure erhaltenen Isonitroso-Derivate geben reduziert die entsprechenden 4-5-Diaminopyrimidine. Aus letzteren wird mit Ameisensäure eine Formylverbindung in Stellung 5 erhalten, welche bei 220° Wasser abgibt und in das betreffende Purin übergeht.

2. Die freien Purinstoffe sind mit Ausnahme der Harnsäure nicht eben leicht krystallisierbar.

Amorph werden erhalten das Hypoxanthin und bei gewöhnlicher Darstellung auch das Xanthin und das Guanin; aber gerade die letztgenannten zwei Basen können sich unter bestimmten Bedingungen in charakteristischen Formen abscheiden.

Das Hypoxanthin bildet hautartige Massen kleiner, mit scharfen Ecken versehener Körnchen, welche für diese Basis eigentümlich sind. Aus heisser, stark verdünnter Lösung scheidet sich das Xanthin aus in makroskopischen lockeren Drusen grosser, dünner glänzender, rhombischer Platten, oder einzelnen rhombischen, der Harnsäure ähnlichen Tafeln, das Guanin aus stark verdünnten heissen Lösungen in schwachem Alkohol in dichten kugeligen oder fächerförmigen Drusen prismatischer oder pyramidaler Krystalle; das Paraxanthin krystallisiert in sechsseitigen Tafeln und aus heisser, konzentrierter Lösung in wasserfreien, prismatischen Nadeln. Das Heteroxanthin bildet Nadeln oder Prismen, die in Drusen oder Fächern angeordnet sein können; aus Ammoniak scheidet es sich in Form gleichseitiger sphärischer Dreiecke ab. Das Adenin bildet lange Nadeln oder mikroskopische lange platte sechsseitige Prismen, die zu Büscheln angeordnet sein können, oder gestreckte Pyramiden (Wetzsteine); sie trüben sich unter Verlust ihres Krystallwassers an der Luft schnell bei 53°. Das Epiguanin ist in feinen, langen Nadeln erhalten worden. — Selbstverständlich können die krystallisierenden Basen, namentlich in unreinem Zustand, amorph (in Knollen usw.) auftreten.

Der Schmelzpunkt der Purine steigt mit steigendem O-Gehalte, bzw. es nimmt die Schmelzbarkeit in der gleichen Reihe ab, wogegen

Digitized by Google

der Eintritt von CH_3-Gruppen den Schmelzpunkt erniedrigt. Die meisten Purine haben überhaupt keinen Schmelzpunkt. Die Sublimierbarkeit nimmt mit steigendem Gehalt an CH_3 zu.

3. Die Löslichkeit in Wasser nimmt mit steigendem Gehalt an O_2 ab und steigt mit dem Gehalte an CH_3.

Von den Lösungen einiger Basen ist ermittelt, dass sie gegen Lackmus neutral reagieren.

Unlöslich ist das Guanin, sehr schwer löslich das Epiguanin. Das Xanthin löst sich in 13 000 Teilen, das Hypoxanthin in 1880, das Adenin in 1086 Teilen Wasser. Durch Sättigen ihrer Lösungen mit Ammonsulfat werden nach Edmunds Xanthin und Hypoxanthin nicht gefällt, durch Sättigen mit Chlorammon wird nach Hopkins [1]) das Xanthin gefällt, das Hypoxanthin nicht.

4. Die Purine sind mit Ausnahme der Harnsäure amphotere Elektrolyte. Sie bilden sowohl H- als OH-Ionen. Als schwache Säuren und Basen sind ihre Salze stark hydrolytisch dissoziiert, und eine reichliche Bildung von negativen Purin-Ionen ist nur möglich, wenn durch einen grossen Laugenüberschuss die Dissoziation des Wassers und damit die Hydrolyse zurückgedrängt wird. Ebenso verhält es sich mit den Säureverbindungen der Purine. Hier kommt die Bildung der positiven Ionen wahrscheinlich wie beim Ammoniak durch Anlagerung von Wasser zustande. Die Abspaltung von OH-Ionen bleibt aber gering, so dass die positiven Purin-Ionen nur bei grossem Säureüberschuss, welcher die Dissoziation des Wassers und damit die Hydrolyse zurückdrängt, beständig sind [2]).

5. Die Ultraviolett-Absorption der Purine verschiebt sich mit zunehmendem O- und CH_3-Gehalt nach dem weniger brechbaren Teil des Spektrums [3]).

6. In den Alkalihydraten lösen sich alle Basen leicht, in Ammoniak nur einige; die Verbindungen mit den übrigen Metallen sind schwer löslich oder unlöslich.

a) In Ammoniak löst sich das Guanin fast gar nicht, das Epiguanin sehr schwer. Das Guanin nnd Epiguanin werden aus ihren sauren Lösungen beim Übersättigen mit Ammoniak gefällt; aus ihren Lösungen in Alkalihydrat fallen auf Zusatz von Salmiak nachweislich die Homologen des Xanthins und das Guanin, die anderen wahrscheinlich auch im umgekehrten Verhältnis zu ihrer Löslichkeit in Ammoniak (das Xanthin nicht).

b) In konzentrierter (30 %iger) Natron- (oder Kali-) lauge sind allein unlöslich die drei Homologen des Xanthins und das Epiguanin. Die Lösungen in den Alkalihydraten reagieren alkalisch, werden durch Kohlensäure gefällt (schon beim Stehen an der Luft) und scheiden dabei entweder ein Salz der Basis ab (wie das Xanthin) oder, wenn das Alkali in Bicarbonat übergeführt ist, die freie Basis. Durch Essigsäure, durch saure Salze, oder beim Neutralisieren mit

[1]) A. Edmunds, Journ. of Physiol. **17**. 452. 1895. — F. G. Hopkins, Journ. of Pathol. and Bacteriol. 1893. 452.

[2]) G. Bredig, Zeitschr. f. Elektroch. **6**. 33. 1899. — Über die Affinitätskonstanten des Xanthins und seiner Derivate vgl. J. Kerfood Wood, Proc. ch. soc. **2**. 271. 1907; Journ. ch. soc. London **87**. 1839.

[3]) Ch. Dhère, C. r. acad. des sc. **142**. 719. 1906; C. r. soc. biol. **50**. 33. 1906.

Digitized by Google

einer Mineralsäure werden die Basen mehr oder minder vollständig gefällt. Fällung aus alkalischer Lösung durch Salmiak 6. a.

7. Von den krystallisierenden Barytsalzen (vakuumtrocken $X.Ba(OH)_2$) löst sich das Xanthinsalz nur wenig in kochendem Wasser, das Guaninsalz nicht unbedeutend, das des Hypoxanthins leichter als das reine Hypoxanthin in Wasser (Strecker). Das Adenin gibt mit Barytwasser einen Niederschlag (Kossel).

8. Durch Bleiessig und Ammoniak werden alle Xanthinbasen und die Harnsäure, mit Ausnahme des Epiguanins, gefällt (Balke, Krüger). Mit Bleiessig allein gibt auch das Hypoxanthin Niederschläge, jedoch nur in Abwesenheit von Bleizucker (Weidel[1]). Vom Xanthin, Hypoxanthin und Adenin ist bekannt, dass sie aus ihren Lösungen in 2 Mol. Natriumhydrat durch Bleizucker abgeschieden werden. Auch das Adenin wird durch Bleiacetat und Ammoniak nicht niedergeschlagen[2]).

9. Essigsaures Kupfer fällt die meisten der Basen, das Hypoxanthin schon in der Kälte. Die Niederschläge sind hellgrün oder bräunlich.

10. Mit Kupferoxydul gehen alle Basen, wie die Harnsäure, unlösliche Verbindungen ein. Drechsel stellte zuerst die Verbindungen von Xanthin, Guanin und Hypoxanthin dar durch Zusatz einer ammoniakalischen Kupferchlorürlösung zur Lösung der Basen, oder durch Erwärmen der Basis in Fehlingscher Lösung mit Traubenzucker oder durch Versetzen einer Lösung der Basis in Fehlingscher Lösung mit Hydroxylaminsalz. Balke fügte diesen das Heteroxanthin, Paraxanthin und Adenin hinzu. Krüger[3]) zeigte dann, dass sich die Verbindungen auch darstellen lassen mittelst Kupfersultat und Bisulfit oder Thiosulfat; mittelst Bisulfit beginnt die Fällung beim Guanin, Hypoxanthin und Adenin schon in der Kälte und verläuft schnell in der Wärme; bei Verwendung von Thiosulfat als Reduktionsmittel wird das Hypoxanthin in der Kälte nicht gefällt, wohl aber in der Wärme; Guanin und Adenin verhalten sich wie bei der Fällung mit Bisulfit. Nur Guanin und Adenin geben in kalter wässriger Lösung ihrer Salze mit Kupfersulfat und Thiosulfat Niederschläge. Heteroxanthin, 1-Methylxanthin und Epiguanin werden, wie die anderen Xanthinbasen, durch Kupfersulfat und Bisulfit schon in der Kälte gefällt (Krüger und Salomon, l. c.). Die Verbindungen sind flockig oder gallertig und weiss, werden aber an der Luft bald grün und braun, sind in Wasser so gut wie unlöslich, lösen sich aber in Thiosulfat, in Mineralsäuren, namentlich leicht in Salpetersäure, langsam in heisser Essigsäure und bei Zutritt von Luft in Ammoniak, wenn ihre Basis in Ammoniak löslich ist. Die Hydrate der fixen Alkalien lösen sie nicht, Alkalisulfid zersetzt sie. Kupfersulfat und Bisulfit fällen alle Purine (mit Ausnahme von Caffein und Theobromin), auch bei Gegenwart von 2 % Kochsalz eventuell mit 6 % Natriumacetat. Das Kochsalz hemmt die Fällung des Paraxanthins, daher muss mindestens 3 Minuten gekocht werden, damit die Fällung vollständig verläuft[4]). Die Fällungen werden durch Nucleinsäure gehemmt[5]).

11. Verbindungen mit Silberoxyd. Wie die Harnsäure werden alle Xanthinbasen durch ammoniakalische Silberlösung gefällt. Die Niederschläge sind nach dem Typus $X.Ag_2O$ zusammengesetzt, gallertig oder flockig, in Wasser schwer löslich, in Ammoniak nicht ganz unlöslich.

Von den Niederschlägen ist der des Xanthins in NH_3 in geringem Grade, der des Guanins, Hypoxanthins, Adenins in verdünntem Ammoniak sehr schwer,

[1]) Balke, Journ. f. prakt. Ch. [2] 47. 566. — M. Krüger, Du Bois' Arch. 1894. 533. — Weidel, Ann. d. Ch. u. Pharm. 158. 362 u. 358. 1871.
[2]) Krüger und Salomon, Zeitschr. f. ph. Ch. 24. 370, 389, 394. 1898.
[3]) E. Drechsel, Ber. d. chem. Gesellsch. 25. 2454. 1892. — Balke, a. a. O. — M. Krüger, Zeitschr. f. physiol. Ch. 18. 352.
[4]) M. Krüger, und J. Schmid, Zeitschr. f. phys. Ch. 45. 1. 1905.
[5]) P. Shiga, Zeitschr. f. phys. Ch. 42. 502. 1904.

Digitized by Google

der des Adenins in starkem Ammoniak beträchtlich, der des Hypoxanthins auch da schwer löslich. Diese Niederschläge lösen sich, soweit sie geprüft sind, auch in Thiosulfatlösung (Kossel und Krüger[1]). Der Hypoxanthinniederschlag wird bei der Digestion mit Ammoniak krystallinisch. — Ausser der Verbindung von der angegebenen Zusammensetzung wird von dem Adenin (gleichzeitig) auch eine Verbindung $C_5H_4AgN_5$ erhalten. Sehr empfindlich ist die Fällung des Paraxanthins gegen Ammoniaküberschuss. Es scheint, dass manche Stoffe die Löslichkeit der Silberverbindungen in Ammoniak sehr erhöhen können. Gelegentlich erhält man bei dem Ammoniakgehalte, der mässige Mengen von Chlorsilber (bei Kochsalzanwesenheit) gerade in Lösung erhält, keine Purinfällung. Die Verbindungen fallen aber beim weiteren Versetzen mit Silbernitratlösung kurz vor oder auch gleichzeitig mit Chlorsilber aus. In solchen Fällen empfiehlt es sich zur Sicherheit etwas Chlorsilber durch entsprechenden Silbernitratzusatz zu der ammoniakalischen Flüssigkeit mit auszufällen und erst nach dem Zersetzen des Niederschlages und eventueller Abtrennung der Harnsäure die Basen noch einmal, nun aber nur mit ammoniakalischer Silberlösung, die keinen Ammoniaküberschuss enthält, zu fällen (Bass, unveröffentlicht). Die Fällung der Purine durch ammoniakalische Silberlösung wird durch Albumosen gehemmt.

12. In Mineralsäuren lösen sich die Xanthinbasen mehr oder minder leicht und bilden mit ihnen krystallisierende Salze, von denen die meisten durch Wasser allein zersetzt werden. Wie die neutralen Salze des Hypoxanthins und des Adenins werden auch die der übrigen Basen gegen Lackmus sauer reagieren. Hypoxanthin und Adenin lösen sich leicht in Salzsäure, Xanthin und Guanin schwer. Organische Säure (Essigsäure) löst sie schwer oder nicht. Die Verbindungen des Xanthins und seiner Homologen mit Salzsäure, Salpetersäure oder Schwefelsäure werden durch Wasser vollständig zersetzt.

a) Das Chlorid des Xanthins bildet kuglige Aggregate oder Oktaeder. Das des Paraxanthins krystallisiert sehr schwer, die Chloride aller anderen Basen bilden Prismen (das des Hypoxanthins auch Tafeln), die Krystalle des Heteroxanthins und Guanins sind makroskopisch.

b) Chloroplatinate. Das des Xanthins (gelbe Nadeln) und Heteroxanthins leicht löslich, prismatisch (das des Epiguanins sechsseitige orangefarbene Prismen, charakteristisch).

c) Chloraurate. Vom Guanin nicht darstellbar, das des Adenins und Epiguanins schwer lösliche Nadeln oder Prismen.

d) Nitrate. Epiguanin kleine polyedrische Krystalle, Guanin feine Nadeln und sechsseitige Tafeln, Adenin Sterne, Xanthin gewimperte Kugeln.

e) Sulfate. Adenin schwer lösliche wohl ausgebildete Krystalle, Xanthin perlglänzende rhombische Tafeln oder Nadelbüschel, Hypoxanthin Nadeln, Guanin makroskopische Prismen.

f) Pyrochromate. Guanin und Epiguanin bilden orangefarbene, schwer lösliche Prismen, Adenin goldgelbe sechsseitige Tafeln. Xanthin und Hypoxanthin geben keinen Niederschlag.

g) Metaphosphate. Von den untersuchten Basen geben nur Adenin und Guanin äusserst feinkörnige, flockige oder häutige Niederschläge. Beide Salze lösen sich schwer in Wasser. Die Adeninverbindung ist löslich in überschüssiger Metaphosphorsäure, beide in Mineralsäure und in Alkalihydrat, die Adeninverbindung leicht auch in Ammoniak.

h) In saurer Lösung werden alle Xanthinbasen durch Phosphorwolframsäure gefällt (Hirschler[2]), Salomon); das Epiguanin

[1]) Zeitschr. f. ph. Ch. 18. 356. 1893.

[2]) Hirschler, Zeitschr. f. physiol. Ch. 11. 25. 1887.

Digitized by Google

ist in dieser Richtung nicht untersucht. Wegen der Schwerlöslichkeit ihrer Verbindungen in Mineralsäuren darf die Phosphorwolframsäure als empfindliches Gruppenreagens betrachtet werden und eignet sich die Fällung der Basen durch diese Säure vorzüglich zur Darstellung selbst kleiner Mengen der Basen. Die Fällung ist nicht absolut vollständig und zum Teil in Wasser löslich[1]). In sehr starker Verdünnung werden die Purinstoffe jedoch von sehr verdünnter Phosphorwolframsäure nicht gefällt, namentlich wenn der Zusatz von Mineralsäure ebenfalls gering ist (0,5% Schwefelsäure und weniger), wenn leichter fällbare Stoffe (Albumosen, Eiweiss, Alkaloide) zugegen sind, wenn man einen Überschuss von Phosphorwolframsäure vermeidet, d. h. das Filtrat einer Fällung keine Phosphorwolframsäure in nachweisbarer Menge enthält und man allenfalls bei mässiger Wärme arbeitet (Wiechowski und Bass, unveröffentlicht).

i) Pikrate. Die Pikrinsäure gibt mit den freien Basen oder Natriumpikrat mit der Verbindung der Basis mit einer Säure in Nadeln krystallisierende Verbindungen mit Paraxanthin, Guanin, Hypoxanthin, Adenin, Epiguanin. Dem Natriumpikrat wird unter Umständen das noch weit löslichere Magnesiumpikrat vorzuziehen sein.

Das Paraxanthin bildet verfilzte gelbe unbeständige Flitter, alle anderen Nadeln oder Prismen. Das Pikrat des Hypoxanthins und des Adenins sind ausgezeichnet durch ihre hellgelbe Farbe. Von den näher untersuchten Verbindungen scheiden sich die des Guanins und des Hypoxanthins langsam ab; diese und das Adeninpikrat sind sehr schwer löslich in kaltem Wasser, das Adeninpikrat besonders schwer löslich in einer Natriumpikratlösung. Die Pikrate werden durch die Alkalihydrate und -carbonate zersetzt (gelöst) und sind nur in neutraler oder schwach saurer Flüssigkeit beständig. Adeninpikrat löst sich leicht in einfach saurem Natriumphosphat. Die Purinstoffe lassen sich aus den Pikraten durch Lösen in Säuren und Ausäthern der Pikrinsäure gewinnen. Zweckmässig ist es, das umständliche Extrahieren der Pikrinsäure dadurch zu verkürzen, dass man die in der Hitze gelösten Pikrate mit ammoniakalischer Silberlösung fällt. In die Fällung der Purine geht dabei nur wenig Pikrinsäure ein, die sich nach dem Zersetzen der Niederschläge, z. B. durch Salzsäure leicht ausziehen lässt (Jones[2]).

j) Picrolonate. Mit alkoholischer Picrolonsäurelösung fällt Adenin, aus dem Filtrat durch Natronlauge das Guanin[3]).

k) Mit Ferricyankalium gibt (salzsaures) Guanin schwer lösliche vier- und sechsseitige gelbbraune Prismen, das Adenin, Xanthin und Hypoxanthin direkt keine Niederschläge.

l) Jodjodkalium gibt nach Kerner[4]) mit Guanin, Sarkin und Xanthin bei einer Verdünnung von 1 : 1000 grünlich braunrote Trübung oder Fällung.

13. Silberpikrate. Die Pikrate des Guanins, Hypoxanthins, und Adenins geben mit Silbernitrat ausserordentlich (selbst in heissem Wasser) schwer lösliche Niederschläge.

---

[1]) Burian und Hall, Zeitschr. f. ph. Ch. 38. 374. 1903.
[2]) Journ. of biol. Ch. 9, 93. 1911.
[3]) P. A. Levene, Biochem. Zeitschr. 4. 1907.
[4]) Kerner, a. a. O. 216.

Digitized by Google

Die Verbindungen des Guanins und des Adenins sind amorph, die des Hypoxanthins bildet kurze Nadeln.

14. Durch Quecksilberchlorid werden alle Xanthinbasen gefällt. Die Niederschläge sind, soweit untersucht, krystallisierbare Verbindungen der Basen mit Quecksilberchlorid.

Das Epiguanin fällt erst auf Zusatz von Natriumkarbonat. Eine stark verdünnte Epiguaninlösung bleibt mit wenig Quecksilberchlorid klar und gibt mit mehr Reagens auch nur eine Trübung, keinen flockigen Niederschlag (Krüger und Salomon, l. c.). Das Heteroxanthin gibt mit Quecksilberchlorid sogleich einen Niederschlag, das Paraxanthin wird dagegen nur langsam und erst auf Zusatz eines Überschusses von Reagens gefällt. Das Xanthin scheidet sich noch bei 30 000 facher Verdünnung ab (Aug. Stromeyer[1]). Auch die Harnsäure wird durch Sublimat gefällt. Das Hypoxanthin und das Adenin geben nur in Gegenwart von Salzsäure Niederschläge von der angegebenen Zusammensetzung, in Abwesenheit von solcher bestehen sie aus der Basis, in welcher 1 At. H durch die einwertige Gruppe -Hg-Cl ersetzt ist. Ein Teil der Basis (Adenin) bleibt in der frei werdenden Salzsäure in Lösung und wird erst durch Natriumcarbonat abgeschieden. — Die Sublimatverbindungen sind unbeständig. Auch Merkurinitrat, Merkuriazetat und Merkuronitrat fällen die Purine insbesonders dann vollständig, wenn die jeweils freiwerdende Säure neutralisiert wird.

15. Verbindungen mit Silbernitrat. Kocht man die Silberniederschläge (11.) mit (verdünnter) Salpetersäure, so gehen sie in Lösung und man erhält aus dieser die übrigens auch direkt aus ihren Bestandteilen darstellbaren Verbindungen der Basen mit Silbernitrat, X . $AgNO_3$, die alle gut krystallisieren und sich ausser durch die Krystallform noch durch ihre verschiedene Löslichkeit in verdünnter Salpetersäure unterscheiden. Man bedient sich dieser Unterschiede in der Löslichkeit nach dem Vorgang von Neubauer[2]) zur vorläufigen Trennung der Basen.

Von den Verbindungen lösen sich nur die des Xanthins und seiner Homologen leicht in heisser Salpetersäure von 1,1 Dichte und bleiben, wenn die Lösung nicht zu konzentriert ist, auch nach dem Erkalten in Lösung (Xanthinfraktion). Von den Verbindungen der anderen Basen ist die des Guanins kaum in Lösung zu bringen, die der übrigen Basen schwer und beim Erkalten scheidet sich die Basis in Verbindung mit Silbernitrat mehr oder minder vollständig wieder ab (Hypoxanthinfraktion). Gegenwart von Silbernitrat erschwert die Löslichkeit.

Die Verbindungen von Hypoxanthin und Adenin enthalten mehr Silber, als der Formel X. $AgNO_3$ entspricht. Das Heteroxanthin bildet Tafeln und Prismen, das Paraxanthin makroskopische weisse Büschel, das Adenin millimeterlange Krystalle, Xanthin und Hypoxanthin Drusen von Nadeln.

Von den Verbindungen des Xanthins, Hypoxanthins und Adenins ist bekannt, dass sie beim Auswaschen mit Wasser Salpetersäure und Silber verlieren.

Durch Digestion mit ammoniakalischer Silberlösung oder durch Zusatz von Ammoniak zu der überschüssiges Silbernitrat enthaltenden Lösung in Salpetersäure kann die ursprüngliche Verbindung der Basen mit Silberoxyd wieder erhalten werden. Digeriert man die Verbindungen X. $AgNO_3$ mit Ammoniak allein, so bildet die Hälfte der Basis mit dem vorhandenen Silber die Verbindung X. Ag_2O, und die andere Hälfte der Basis geht, wenn sie in Ammoniak löslich ist, in Lösung.

---

[1]) Aug. Strohmeyer, Ann. d. Ch. u. Pharm. **134**. 49. 1865.

[2]) Neubauer, Zeitschr. f. anal. Ch. **6**. 33. 1867.

Digitized by Google

16. Die Purine können ihre H-Atome leicht gegen Alkyle, Cl oder OH austauschen. Die Aminoderivate der Purine, welche eine freie NH_2-Gruppe enthalten, können ausserdem natürlich Acetyl- und Benzoylderivate bilden. Diejenigen Purine, welche im Imidazolring die Amidinbindung noch erhalten haben $\left(\begin{array}{l} -NH(7) \\ \quad\quad > CH(8) \\ -N \end{array}\right)$, d. h. bei denen das 8-C-Atom nicht hydriert oder oxydiert ist und bei denen die Stellung 7 nicht substituiert ist, verbinden sich mit Diazokörpern zu Diazoamidoverbindungen, gelben bis roten, krystallisierten, säurebeständigen, in Alkali löslichen Stoffen (Burian[1])). Alkaliüberschuss wirkt bei der Bildung schädlich. Durch heisses Wasser oder heisse Lauge werden diese Verbindungen unter N-Entbindung zersetzt.

17. Farbenreaktionen.

a) Die Weidelsche Probe. Es wird ein wenig Substanz in der Wärme in frischem Chlorwasser gelöst (der von Weidel empfohlene gleichzeitige Zusatz einer Spur Salpetersäure ist überflüssig), die Lösung im Wasserbade zur Trockne abgedampft und der weisse oder schwach gelbe Rückstand unter einer Glocke einer Ammoniakatmosphäre ausgesetzt. Xanthin (Kossel, Salomon) und seine Homologen (Salomon) werden dabei dunkelrosenrot oder purpurrot, auf Zusatz von Natron- oder Kalilauge (in der Wärme) blauviolett (Salomon[2])).

Guanin (Krukenberg und Wagner, Salomon), Hypoxanthin (Scherer, Kossel, Salomon) und Adenin (Kossel[3])) geben diese Probe nicht, ebensowenig Epiguanin. Dagegen gibt sie auch die Harnsäure.

Die Probe ist eine Murexidprobe (S. 1029). Erwärmt man nach E. Fischer[4]) Xanthin mit 15 %iger Salzsäure auf 50—60° und trägt chlorsaures Kali ein, so entsteht Alloxan. Dieselbe Zersetzung erfolgt beim Kochen von Xanthin mit Chlorwasser. Verdampft man einige Tropfen der Lösung vorsichtig auf dem Platinblech, so bleibt ein schwach gelblicher Rückstand, der sich bei wenig höherer Temperatur rot färbt und mit Ammoniak eine purpurfarbene Lösung liefert.

Die Probe mit Salzsäure und Kaliumchlorat ist jedoch nicht ohne weiteres an die Stelle des ursprünglichen Verfahrens mit Chlor zu setzen.

b) Die „Xanthinprobe" mit Salpetersäure. Man löst eine kleine Menge Substanz in heisser Salpetersäure und verdampft über

[1]) B. B. **37**. 636 (1904). Zeitschr. f. ph. Ch. **43**. 501. 1905. **51**. 425. 1907.

[2]) Weidel, Ann. d. Ch. u. Pharm. **158**. 365. 1871. — Kossel, Zeitschr. f. physiol. Ch. **6**. 426. — Salomon, Ber. d. chem. Gesellsch. **16**. 198.; 18. 3408; Zeitschr. f. klin. Med. a. a. O. 76.

[3]) C. Fr. W. Krukenberg und H. Wagner, Sitzungsber. d. Würzburger physik.-med. Gesellsch. 1883. — Salomon, Du Bois' Archiv 1884. 175. — Scherer, Ann. d. Ch. u. Pharm. **112**. 267. 1859. — Salomon, Zeitschr. f. physiol. Ch. **11**. 411. 1887. — Kossel, Zeitschr. f. physiol. Ch. **10**. 255. 1886.

[4]) E. Fischer, Ann. d. Chemie **215**. 310. 1882.

Digitized by Google

freiem Feuer oder besser im Wasserbade zur Trockne. Bei Gegenwart von Xanthin (Marcet; Liebig und Wöhler; Strecker) und von Guanin (Strecker) hinterbleibt ein zitronengelber Fleck, der sich in Natron- oder Kalilauge mit orangegelber Farbe löst. Dampft man die Lösung ein, so färbt sie sich violettrot und lässt einen dunkelpurpurnen Rückstand (Strecker) zurück, der bei scharfem Trocknen endlich rein indigoblau, an feuchter Luft aber wieder violett wird (Brücke[1]). Salmiak macht die Lösung wieder gelb. — Das Epiguanin gibt diese Reaktion gleichfalls, das Hetero- und das Paraxanthin dagegen nicht (Salomon), ebensowenig das Hypoxanthin (Salomon, Kossel) und das Adenin (Kossel).

Die Probe beruht beim Xanthin und Guanin auf der Bildung von Nitroxanthin, welche beim Eindampfen von Xanthin oder Guanin mit Salpetersäure vor sich geht.

Bei gleichzeitiger Gegenwart selbst nur von Spuren Chlor oder Chlorid wird nach Stadthagen[2]) der weisse oder gelbe Rückstand, der bei weiterem Trocknen meistens rötlich wird, beim Befeuchten mit Ammoniak dunkelrosenrot bis purpurn, mit Kalilauge blauviolett (Murexidprobe).

Das Adenin und das Hypoxanthin sind die einzigen Basen, welche keine der beiden Farbenreaktionen geben. Das Xanthin allein gibt dagegen die Weidelsche und die Xanthinprobe.

c) Das Xanthin bildet, wenn man ein Körnchen desselben in eine Mischung von Chlorkalk und Natronlauge legt, einen grünen, ins Braune übergehenden Hof, das Hypoxanthin nicht.

d) Behandelt man Adenin oder Hypoxanthin mit Zink und Salzsäure und neutralisiert darnach das Filtrat oder macht es alkalisch, so färbt sich die Flüssigkeit an der Luft rot und braunrot (Kossel).

e) Adeninlösung nimmt mit Eisenchlorid eine stark rote Färbung an (Krüger).

f) Löst man 0,1 Substanz in 5 ccm heisser verdünnter Natronlauge und fügt nach dem Erkalten ein wenig Diazobenzolsulfosäure hinzu, so erhält man bei Anwesenheit von Guanin, Adenin, Hypoxanthin, Xanthin und den Methylxanthinen mit Ausnahme des Kaffeins, Theobromins, Paraxanthins und Heteroxanthins, Rotfärbung[3]).

g) Die Purinstoffe geben mit einer alkalischen Lösung von Metadinitrobenzol eine Purpurfärbung. Die Färbung hängt von der Konzentration aller beteiligten Faktoren ab. Sie wird durch den Luftsauerstoff zerstört. Man hat daher die Mischung mit Vaselinöl oder ähnlichem zu bedecken. Bei gleichen Mengen Ätznatron und konzentriertem Metadinitrobenzol wechselt die Färbung mit der Konzentration an Purinstoff. Darauf wurde eine kolorimetrische Schätzung der Harnsäure begründet (A. Morel und H. Chavassieu[4]).

---

[1]) Liebig und Wöhler, Ann. d. Ch. u. Pharm. **26**. 341. 1838. — Strecker, Ann. d. Ch. u. Pharm. **108**. 137 f. 1858. — E. Brücke, Monatsh. f. Ch. **7**. 617. 1886.

[2]) Stadthagen, Virchows Arch. **109**. 395.

[3]) R. Burian, B. B. **37**. 696. 1904; Zeitschr. f. phys. Ch. **43**. 501. 1905; ebenda **51**. 425. 1907.

[4]) Bull. soc. chem. de France **1**. 520. 1907; nach J. T. 37.

Digitized by Google

h) Als leicht oxydable Stoffe wirken die Purinsubstanzen besonders bei alkalischer Reaktion reduzierend. Darauf ist die Blaufärbung zu beziehen, die namentlich die Harnsäure mit Phosphorwolfram- oder Phosphormolybdänsäure und Alkali geben [1]).

18. Zersetzungen.

Bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl wird vom Xanthin und Guanin aller Stickstoff gefunden, durch Phosphorsäure zersetzt sich das Xanthin bei 150° unvollständig, und gibt das Guanin nur eine geringe Menge seines Stickstoffs ab, bei 230° aber allen als Ammoniak. Beim Erhitzen mit alkalischer Chlorbaryumlösung auf 150° liefert das Xanthin etwas über 1/4 der bei der Zersetzung möglichen Kohlensäure, das Guanin gleichfalls nur wenig Kohlensäure und Ammoniak, bei 230° dagegen gibt das Xanthin auf das Mol. 2 Mol. Kohlensäure, das Guanin 2 Mol. Kohlensäure und 5 Mol. Ammoniak (Schöndorff [2]). Durch Laugen und durch Salpetersäure in der Hitze werden die meisten Purine zersetzt. Durch salpetrige Säure wird die Aminogruppe der Aminopurine in die OH- bzw. O-Gruppe übergeführt. Dieselbe Umwandlung können die Aminopurine durch längeres Kochen mit starken Mineralsäuren erleiden [3]).

Die Purine sind schliesslich dem zersetzenden Einflusse von Bakterien und Fermenten sehr zugänglich.

Durch die Pankreasfäulnis werden nach Baginsky Guanin, Xanthin und Hypoxanthin zerstört, das Hypoxanthin am wenigsten; nach Schindler [4]) wird dabei zunächst das Guanin in Xanthin, das Adenin in Hypoxanthin übergeführt.

Fäulnis des Stuhles vermindert dessen Basengehalt [5]). Das Harnsäurebakterium greift Guanin nicht an, wohl aber ein aus Taubenmist isoliertes Bakterium [6]). Reinkulturen von Koli- und Fäkalbakterien zersetzten Guanin und Adenin über Xanthin und Hypoxanthin vollständig [7]). Von den Fermenten der tierischen Organe werden die Purine desamidiert und oxydiert, es entsteht als Endprodukt Harnsäure und Allantoin (s. o. S. 909). Auch in Pflanzen sind derartige Fermente gefunden worden, so in der Hefe [8]).

Durch die elektrolytische Reduktion werden die Oxypurine in die entsprechenden Dihydroverbindungen umgewandelt, in denen der Sauerstoff durch H_2 ersetzt ist (Tafel [9])).

III. Bestimmung des Gesamt-Purin-Stickstoffs. Die Purinstoffe werden durch ammoniakalische Silberlösung oder durch Kupfersulfat und Natriumbisulfit als Kupferoxydulverbindungen quantitativ niedergeschlagen und der Stickstoff der gut gewaschenen Niederschläge nach Kjeldahl bestimmt. Wenn Nucleinsäure zugegen ist, so sind beide Fällungen unvollständig, man hat dann vor der Verarbeitung den Harn 2—3 Stunden mit 2—3%iger Schwefelsäure zu

[1]) Vgl. auch Riegler, Wien. med. Bl. **24**. 789. 1901.
[2]) B. Schöndorff, Pflügers Arch. **62**. 41. 1895.
[3]) E. Fischer, B. B. **43**. 803. 1910.
[4]) A. Baginsky, Zeitschr. f. physiol. Ch. 8. 396. — G. Schindler, Zeitschr. f. physiol. Ch. **13**. 439. 1889.
[5]) A. Schittenhelm, Zeitschr. f. ph. Ch. **39**. 199. 1903.
[6]) C. Ulpiani u. M. Cingolani, Atti real. acc. dei lincei Roma **14**. II. 596. 1906.
[7]) Schittenhelm und Fr. Schröter, Zentralbl. f. Stoffw. u. Verdauungskrankh. **6**. 319. 1905.
[8]) M. N. Straughen und W. Jones, Journ. of. biol. Ch. **6**. 245. 1909.
[9]) B. B. **33**. 33 69. 1910; **34**. 1165 u. 1170. 1901.; **33** 1371; **40**. 3752. 1907; **40**. 3757. 1907.

Digitized by Google

kochen und dadurch die Nucleinsäure zu zerstören, deren Purinbasen dann bei der folgenden Bestimmung mit bestimmt werden. Eine indirekte Bestimmungsmethode durch Bestimmung des Silbergehaltes der durch ammoniakalische Silberlösung und Magnesiamixtur erhaltenen Fällung ist nicht möglich, da der Silbergehalt der Silberoxydulverbindungen aller Purinstoffe nicht gleich ist. Die Basenverbindungen enthalten auf ein Mol Purinsubstanz 2 Atome, die Harnsäureverbindung 1 Atom Silber. Die indirekte Bestimmung durch Bestimmung des Kupfergehaltes des Niederschlages ist ebenfalls nicht möglich (siehe weiter unten). Weder durch die eine noch die andere Methode werden auch Kaffein, Theobromin und Allantoin mit gefällt. Diese Stoffe, die in physiologischer Beziehung ebenfalls der Gesamtpurinfraktion zugezählt werden müssen, müssen daher, wenn vorhanden, in einer zweiten bzw. dritten Harnportion für sich bestimmt werden. Der sich aus diesen Bestimmungen ergebende Kaffein-, Theobromin- und Allantoin-N ist dann dem nach den beiden zu beschreibenden Methoden ermittelten „Gesamtpurin-N" zuzuzählen.

1. Fällung als Silberoxydulverbindungen. Verfahren nach Camerer-Arnstein.

A. Prinzip. Camerer[1]) fällt den Harn mit Magnesiamischung aus, das Filtrat mit ammoniakalischer Silberlösung und bestimmt im Silberniederschlag den Stickstoff. Das bei der Fällung mit ammoniakalischer Silberlösung mit den Purinstoffen ausfallende Rhodansilber wird nach Arnstein durch reichlichen Ammoniakzusatz in Lösung gebracht, bzw. fällt bei der zu beschreibenden Arbeitsweise infolge des grossen Ammoniaküberschusses gar nicht aus. Spuren Eiweiss schaden der Bestimmung nichts. Enthält der Harn aber Eiweiss in solchen Mengen, dass es durch die gebräuchlichen Methoden nachgewiesen werden kann, so muss es entfernt werden, wozu Kochen des Harns bei geignetem Zusatz von Essigsäure das passendste Verfahren ist. Harnpepton bleibt bei der Silberfällung in Lösung. Durch die Magnesiamischung wird auch die gesamte Phosphorsäure als Tripelphosphat in Verbindung mit Ammoniak und Magnesium gefällt. Diese Beimengung würde wegen ihres Ammoniakgehaltes die Ermittelung des Purinstickstoffes durch Verarbeitung der Fällung nach Kjeldahl unmöglich machen. Man fällt daher den Harn vor dem Zusatz der ammoniakalischen Silberlösung mit Magnesiamischung aus. Diese vorbereitende Fällung hat nach Arnstein noch den Vorteil, dass durch dieselbe geringe Mengen Eiweiss (0,05%, aber nicht mehr als 0,15%) aus dem Harn entfernt werden. Arnstein hat ferner nachgewiesen, dass bei

[1]) W. Camerer, Zeitschr. f. Biol. **26**. 104. 1890; **28**. 72. 1891.

Digitized by Google

der vorläufigen Fällung des Harns mit Magnesiamischung kein Verlust an Harnsäure (durch Ausfallen des schwer löslichen Ammonurats) eintritt, wenn man mit dem Abfiltrieren des Tripelphosphats nicht stundenlang wartet (wohl könnte aber, wenn reichlich vorhanden, Guanin gefällt werden), und dass die Spur Tripelphosphat, welche in Lösung bleibt, ohne Einfluss auf die Bestimmung des Stickstoffs ist.

B. Erfordernisse.

1. Magnesiamischung.
2. Ammoniakalische Silberlösung, beide nach Ludwig, S. 1052.
3. 20 %iger Ammoniak.
4. Die Erfordernisse zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl, S. 481.

C. Ausführung.

Die Grenze des Eiweissgehaltes, welchen der Harn ohne Nachteil für die Analyse besitzen darf, liegt zwischen 0,05—0,15%; da sich die Eiweissmenge nicht sicher schätzen und nicht schnell genug bestimmen lässt, tut man gut, jeden eiweisshaltigen Harn durch Kochen bei passend saurer Reaktion vom Eiweiss zu befreien. Enthält der Harn ein Uratsediment, so bringt man dasselbe entweder durch Alkalizusatz oder dadurch in Lösung, dass man den Harn einige Stunden im Brutschrank bei 40—45° stehen lässt.

Nach den Ermittelungen von Arnstein[1]) verfährt man bei der Anstellung der Analyse in folgender Weise. Es werden 240 ccm Harn in einem Masszylinder mit 30 ccm Magnesiamischung versetzt und mit 20%igem Ammoniak auf 300 ccm aufgefüllt. Man kann sogleich filtrieren oder den Niederschlag sich erst absetzen lassen. Vom Filtrat misst man für 2 Bestimmungen je 125 ccm (= 100 Harn) ab und setzt zu jeder Probe 10 ccm ammoniakalischer Silberlösung. Den Niederschlag bringt man, ohne lange zu warten, auf ein etwa 10 cm im Durchmesser haltendes Saugfilter aus aschefreiem Papier. Geht die Flüssigkeit anfangs nicht ganz klar durchs Filter, was sich nur durch eine schwache, homogene Trübung kenntlich macht, so giesst man die ersten 50 ccm des Filtrats in das Becherglas zurück, spült die Filtrierflasche einigemal mit wenig Wasser nach und vereinigt das Waschwasser mit der Flüssigkeit im Becherglase. Das Filter ist durch den bereits auf dasselbe gebrachten Niederschlag so dicht geworden, dass der Niederschlag nun vollständig zurückgehalten wird. Die Filtration geht langsam vonstatten, aber von dem wiederholt empfohlenen Zusatze schwer löslicher oder unlöslicher Substanzen (Natriumbicarbonat, Calciumcarbonat, Talk) hat man keinen Vorteil. Das Becherglas wird sorgfältig mit schwach ammoniakhaltigem Wasser nachgewaschen. Wenn der Niederschlag voll-

[1]) R. Arnstein, Zeitschr. f. physiol. Ch. 23. 426. 1897.

Digitized by Google

ständig auf das Filter gebracht ist, muss er völlig ammoniakfrei gewaschen werden. Übergiesst man den feuchten Niederschlag mit Wasser, so geht die Filtration sehr langsam vor sich. Viel schneller und nicht minder sicher erreicht man dieses Ziel, wenn man den Niederschlag so weit trocken saugt, dass er rissig wird, und ihn erst dann zu waschen anfängt. Füllt man dabei das Filter jedesmal ganz voll mit Wasser, so verbraucht man ungefähr 250—300 ccm Wasser und vollendet das Auswaschen in 10—20 Minuten. Als ammoniakfrei kann man das Filtrat betrachten, wenn die Waschflüssigkeit auf empfindliches Lackmuspapier nicht mehr alkalisch reagiert.

Um das Filtrat auf seine Reaktion zu prüfen, verfährt man in der Weise, dass man die Filtrierflasche und alle in sie hineinreichenden Teile des Apparats gründlich wäscht, dann wieder vor der Pumpe filtriert und nun die an der Spitze des Trichters haftende Flüssigkeit auf ihre Reaktion untersucht. Der Ammoniakdampf kommt mit allen Teilen des Apparats in der Flasche in Berührung; unterlässt man die Reinigung dieser Teile, so nimmt die alkalische Reaktion kein Ende, auch wenn vom Filter schon längst ammoniakfreie Flüssigkeit abgelaufen ist.

Vor der Belichtung braucht man den Niederschlag nicht ängstlich zu hüten; es ist nicht nötig, dass man im Dunkeln filtriert, es genügt, wenn man vom Niederschlage sehr helles Tageslicht abhält, etwa durch einen Vorhang vor dem Fenster.

Der Niederschlag enthält ausser der Harnsäure und den Xanthinbasen, wie Salkowski nachgewiesen hat, noch Ammoniak, von welchem er noch zu befreien ist, wenn die Stickstoffbestimmung nicht unrichtig ausfallen soll. Man erreicht das nach Arnstein[1]) leicht durch Kochen des Niederschlages (samt Filter) mit Wasser und etwas Magnesia. Zur Oxydation nach Kjeldahl verwendet man 15 ccm Schwefelsäure, 0,5 g Kupfervitriol und 10 g Kaliumsulfat, die man gleich anfangs auf einmal zusetzt. Auf den Stickstoffgehalt des Filters braucht man keine Rücksicht zu nehmen, da ein ausgewaschenes, aschefreies Filter von der erforderlichen Grösse nur wenige Hundertstel mg Stickstoff enthält.

Bei der Verarbeitung von Kaninchen- und Hundeharn nach dieser Methode erhält man in vielen Fällen überhaupt keinen Niederschlag nach Zusatz der ammoniakalischen Silberlösung. In anderen Fällen wird man durch weitgehende, sehr rasch einsetzende Reduktion des Silbers gestört. Das letztere tritt namentlich dann öfter ein, wenn zu wenig Magnesiumsalz zugegen ist. Man soll daher bei diesen Harnen einen grossen Überschuss von Magnesiamixtur verwenden. Die Filtration geht meist äusserst langsam vonstatten und stockt eventuell ganz. Ich habe gefunden, dass man alle diese Übelstände vermeiden kann, wenn man den Harn vor der Behandlung mit Magnesiamixtur mit soviel einer 1%igen Phosphorwolframsäurelösung ausfällt, dass im

[1]) Salkowski, Pflügers Arch. 69. 273. 1898. — Arnstein, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 15. 257. 1898.

Digitized by Google

Filtrat keine Phosphorwolframsäure vorhanden ist. Das Verfahren gründet sich auf die Beobachtung, dass bei einem derartig bemessenen Zusatz von Phosphorwolframsäure weder Purinbasen noch Harnsäure, wenn sie in starker Verdünnung zugegen sind, gefällt werden, dass aber eine Summe von kolloiden, offenbar eiweissartigen Stoffen, die für die spätere Fällung ein Hemmnis sind und die Filtration erschweren, hierdurch beseitigt werden. Man versetzt den verdünnten Harn in einem Messzylinder mit 1% an rauchender Salzsäure und tastet in kleinen Proben à 2 ccm diejenige grösste Menge 1%iger Phosphorwolframsäure aus, nach deren Zusatz im Filtrate durch den verwendeten Harn oder eine 5%ige Chininhydrochloridlösung keine Trübung entsteht. (Chinin hat sich nach Versuchen von Bass als sehr zweckmässiges und empfindliches Reagens auf Phosphorwolframsäure erwiesen.) Nach dem Ergebnis dieser Proben berechnet man die dem Harn zuzusetzende Menge der 1%igen Phosphorwolframsäurelösung, setzt sie zu, liest das Volumen ab und filtriert von der braunen flockigen Fällung ab. Die Filtration geht ungemein rasch vonstatten. Mit einem aliquoten Filtratsteile verfährt man dann weiter nach Camerer-Arnstein. Auch im Menschenharn erhält man bei dieser Behandlung mit Phosphorwolframsäure eine geringe braune Fällung. Man erhält dann stets im Tierharn — auch in solchen, welche ohne diese Behandlung keinen Purinniederschlag ergeben hatten — eine deutliche Fällung, die beim Kaninchen- und Hundeharn zum grössten Teil aus der Magnesium-Silberverbindung der Harnsäure besteht.

Ein zweiter Fehler ist möglicherweise in einem zu grossen Ammoniakgehalte der zur Fällung mit Silberlösung benützten Filtrate zu suchen. Obzwar im allgemeinen die meisten Basen und insbesondere die Harnsäure auch bei reichlichem Ammoniaküberschuss quantitativ ausfallen, so werden vielleicht andere, sonst weniger wirksame Hemmnisse bei Anwesenheit von grossen Mengen von Ammoniak wirksam. Der Purinniederschlag mit ammoniakalischer Silberlösung ist in Ammoniak nicht absolut unlöslich[1]). Wie sich diese Verhältnisse im Harn ergeben, haben wir noch nicht ermittelt, aber Bass hat gefunden, dass bei der Verarbeitung von Blut auf Purinstoffe nach einer im wesentlichen auf die erwähnte Verwendung der Phosphorwolframsäure zur vorläufigen Reinigung begründeten Methode, bei der Fällung nach Camerer-Arnstein erst dann ein Niederschlag eintrat, wenn statt ammoniakalischer eine gewöhnliche 10%ige Lösung von Silbernitrat zugesetzt wurde. Hierbei entsteht zunächst eine Fällung von Chlor-

[1]) Salkowski, Virchows Arch. **50.** 193. — Salomon, B.B. **16.** 195. 1883; Zeitschr. f. klin. Med. **7.** Suppl.-Heft 65. 1884; vgl. auch Kennaway, Journ. of phys. **31.** 8. 1909.

Digitized by Google

silber, die sich beim Umschwenken solange löst, als das vorhandene Ammoniak ausreicht, dann bleibt der Silberchloridniederschlag bestehen. Bei diesem Vorgehen erhielten wir in fast allen Fällen, auch in denen, welche nach dem gewöhnlichen Verfahren keine Purinfällung ergaben, eine solche. Nach dem Zersetzen derselben durch Schwefelwasserstoff (eventuell unter Zusatz von wenig Kupfersalzlösung [1])) erhält man klare Filtrate, welche nun in der typischen Weise mit ammoniakalischer Silberlösung oder Kupfersulfat-Bisulfit reagieren. Es wäre daran zu denken, in ähnlicher Weise im Harn vorzugehen und die erste mit Silberchlorid verunreinigte Fällung, die möglicherweise auch noch andere als nur Purinstoffe enthalten kann, nach dem Zersetzen zur definitiven Purinfällung zu verwenden.

Statt der ammoniakalischen Silberlösung verwenden Rudisch und Boroschek [2]) Soda und eine Auflösung von Chlorsilber in Natriumsulfitlösung. 100 neutralen Harns werden mit 15 ccm einer gesättigten Sodalösung und 10 ccm einer n/20-Silberchloridlösung in Natriumsulfitlösung versetzt. Im gewaschenen Niederschlag das Silber zu titrieren, wie die Autoren vorschlagen, geht wegen der oben erwähnten Verschiedenheit des Silbergehaltes der Basen- und der Harnsäureverbindung nicht an. Bei der Verarbeitung des Niederschlags nach Kjeldahl wird man die Fehler. die aus der eventuellen Anwesenheit von Tripelphosphat im Niederschlag (in ammoniakhaltigen Harnen) resultieren können, im Auge behalten müssen.

Aus dem gleichen Grunde wie oben ist der Vorschlag von Rudisch und Kleeberg [3]). nach der Silberfällung den Silberüberschuss mit Jod zurückzutitrieren, unbrauchbar. Sie versetzten 110 Harn mit 55 n/50-Silberlösung und 55 Ammoniak. 100 Filtrat sollen so lange mit n/05 Kaliumjodidlösung versetzt werden bis eine herausgenommene Probe einen Überschuss an Jodid aufweist. Als Reagens wird eine Mischung von Nitrit, Schwefelsäure und Stärkekleister verwendet, die bei Anwesenheit von Jodid mit der herausgenommenen Probe geschichtet sich bläut.

Jolles kocht aus dem Silberniederschlage das Ammoniak weg, zerlegt ihn durch Natriumsulfid, versetzt mit Schwefelsäure, oxydiert mit Permanganatlösung und bestimmt den gebildeten Harnstoff azotometrisch [4]).

Bonnet [5]) verteilt den Silberniederschlag in 100 Wasser, setzt 20 ccm konzentrierte Schwefelsäure zu und titriert mit Chamäleonlösung wie bei der Harnsäurebestimmung.

W. Hall [6]) misst die Menge der Gesamtpurine an der Masse des Silberniederschlages, die er in einem graduierten und empirisch geeichten Cylinder abliest. Der Cylinder ist durch einen Hahn, dessen Bohrung dasselbe Lumen hat wie der Cylinder, in zwei Teile geteilt. Bei offenem Hahn werden 90 ccm Harn mit 20 ccm Magnesiamischung (100 Ludwigsche Magnesiamischung. 100 20 %iges Ammoniak und 10 Talk) versetzt. Nachdem sich die Phosphate abgesetzt haben, wird der Hahn geschlossen und bis zur Marke 100 mit Silberlösung aufgefüllt (1 g Silbernitrat, 100 konzentriertes Ammoniak, 100 Wasser und 5 g Talk). Man lässt den Niederschlag im Dunkeln absitzen und liest ab.

---

[1]) Folin und Shaffer, Zeitschr. f. ph. Ch. **32**. 553. 1901.

[2]) Journ. of the am. Ch. soc. **24**. 562. 1902; Chem. Zentralbl. 1902. II. 486.

[3]) Am. Journ. med. sciences **128**. 899. 1904.

[4]) Zeitschr. f. ph. Ch. **29**. 222. 1900; Monatsh. f. Ch. **21**. 319. 1900; Zentralbl. f. inn. Med. **21**. 905. 1900.

[5]) Thèse Lyon 1903/04.

[6]) Wien. klin. Wochenschr. **16**. 411. 1903. — Dissert. Manchester 1902; Arch. général de med. **190**. 397. 1902. — Schmidt, Münch. med. Wochenschr. 1911. 1764. — A. Rybokowski, Dissert. Petersburg 1904.

Digitized by Google

2. Fällung als Kupferoxydulverbindungen nach Krüger und Schmid[1]).

Prinzip: Sämtliche Purinstoffe des Harns mit Ausnahme von Kaffein und Theobromin werden durch eine saure Lösung von Kupferoxydul in der Hitze gefällt. Nach Huppert[2]) werden hierbei auch Rhodan, Eiweiss und Albumosen quantitativ gefällt. Aus Hundeharn fällt nach Solomin dabei auch die Kynurensäure[3]). Das ursprünglich von Krüger und Wulf[4]) angegebene Verfahren zur Bestimmung der Xanthinbasen ist demnach in seiner Originalform zur Bestimmung des Gesamtpurin-N nicht geeignet, es liefert zu hohe Werte. Krüger und Schmid haben dann gezeigt, dass die genannten Verunreinigungen der Purinkupferoxydulfällung zusammen mit einem Rest von Harnsäure zerstört werden, wenn man nach dem Abtrennen der Harnsäure aus dem durch Sulfid zerlegten Niederschlage durch Säure, die verbleibende Basenlösung mit aufgeschwemmtem Braunstein bei essigsaurer Reaktion in der Wärme kurze Zeit digeriert. In dem Filtrate müssen dann die Basen wieder als Kupferoxydul- oder als Silberoxydulverbindungen abgeschieden werden. Aus den Werten für Harnsäure und Basen wird dann der Gesamt-Purin-N berechnet. Will man die Methode zur direkten Bestimmung des Gesamt-Purin-N benützen, so hat man den erhaltenen Niederschlag durch Sulfid oder Schwefelwasserstoff zu zersetzen und in dem erhaltenen Filtrate eine Silberfällung durch ammoniakalische Silberlösung und Magnesiamixtur zu erzeugen, die man dann nach der oben bei 1. beschriebenen Vorbereitung der N-Bestimmung nach Kjeldahl unterwerfen kann.

Erfordernisse:

1. Käufliche 40 %ige Natriumbisulfitlösung.
2. 10 %ige Kupfersulfatlösung.
3. Krystallisiertes Natriumacetat.
4. Schwefelwasserstoff oder eine Natriumsulfidlösung nach Ludwig (s. S.1052).

Ausführung: 400 ccm eiweissfreien (eventuell durch Kochen mit Essigsäure enteiweissten) Harns werden in einem einen Liter fassenden Kolben mit 24 g Natriumacetat und 40 ccm Bisulfitlauge zum Sieden erhitzt. Hierauf setzt man langsam (je nach der Menge der vorhandenen Purinstoffe) 40—80 ccm Kupferlösung zu und erhält mindestens 3 Minuten im Sieden. Ein etwa vorhandenes Sediment ist wie bei 1. vorher in Lösung zu bringen. Der dunkelbraune — meist mit etwas pulverigem Kupferoxydul vermengte — flockige Niederschlag wird sofort oder nach dem Erkalten auf einem Filter gesammelt und solange ge-

[1]) Zeitschr. f. ph. Ch. **32**. 104; **45**. 1. 1905.
[2]) Ebenda, **22**. 556. 1897.
[3]) Ebenda, **23**. 501. 1897.
[4]) Ebenda, **20**. 181. 1894.

Digitized by Google

waschen, bis das Waschwasser farblos abläuft (eventuell sulfat- oder kupferfrei gewaschen). Da sich der Niederschlag zumeist nicht gut vom Filter abspritzen lässt, so bringt man ihn zweckmässig mit dem Filter in den Kolben zurück, setzt ca. 200 ccm Wasser zu, verschliesst mit einem Stopfen und verteilt das Filter durch kräftiges Schütteln. Nach dem Abspülen des Kolbenhalses und Stopfens versetzt man mit wenigen ccm verdünnter Salzsäure, erhitzt zum Sieden und leitet Schwefelwasserstoff bis zur völligen Zersetzung des Niederschlages ein. Der überschüssige Schwefelwasserstoff wird dann durch Kochen entfernt. Man kocht so lange, bis ein in die Dämpfe gehaltenes, mit Blei- oder Silberlösung befeuchtetes Papier nicht mehr geschwärzt wird. Man kann auch statt mit Schwefelwasserstoff mit 30 ccm der Natriumsulfidlösung eben zum Sieden erhitzen, dann mit Essigsäure ansäuern und bis zum völlig klaren Absetzen des Niederschlages kochen. Hierauf filtriert man, zweckmässig auf der Nutsche, und wäscht gründlich mit heissem Wasser aus. Filtrat und Waschwässer werden dann mit Ammoniak neutralisiert und in derselben Weise wie bei der Harnsäurebestimmung nach Ludwig (S. 1052) mit einer Mischung von gleichen Teilen Magnesiamixtur und ammoniakalischer Silberlösung, in welcher man den entstandenen Silberchloridniederschlag durch den gerade ausreichenden Ammoniakzusatz in Lösung gebracht hat, gefällt. Mit dem ammoniakfrei gewaschenen Niederschlage verfährt man dann genau nach Camerer-Arnstein weiter.

Nach Benedikt und Saiki[1]) findet man bei der Kupfermethode oft weniger Gesamt-Purin-N als der gleichzeitig nach Folin-Shaffer im Menschenharne bestimmten Harnsäure entspricht. Die Methode liefert also unter Umständen zu niedrige Werte, während sie a priori zu hohe liefern sollte (s. o. S. 946). Worauf das beruht, ist nicht bekannt. Nach den beiden Autoren erhält man aber brauchbare Resultate, wenn man vor der Fällung pro 300 ccm Harn 20 ccm Eisessig zusetzt.

Tierische Harne (Kaninchen-, Schweine-, Hundeharn) filtrieren sehr schlecht. Nach Schittenhelm[2]) hat es sich zur Vermeidung dieses Übelstandes als zweckmässig erwiesen, den Harn vor der Fällung 2—3 Stunden mit 2—3%iger Schwefelsäure auf dem Rückflusskühler zu kochen, dann nach dem Abkühlen mit Lauge alkalisch und mit Essigsäure wieder sauer zu machen und von dem zurückbleibenden dunkelbraunen Niederschlage abzufiltrieren. Man wäscht das Filter mit heissem Wasser gründlich aus und nimmt dann die Fällung vor. Die weitere Verarbeitung geht dann glatt vonstatten.

---

[1]) Journ. of biolog. Ch. 7. 27. 1909. — Über eine Änderung vgl. W. Jones, Journ. of biol. Ch. 9. 129. 1911.

[2]) Abderhalden, Handb. d. biolog. Arbeitsmethode. 3. 887.

Digitized by Google

Denigès[1]) fällt den Harn in der Hitze mit Kupfersulfat und Natriumthiosulfat aus, wobei nach Monfet[1]) übrigens nur die Cu_2O-Verbindung der Harnsäure ausfallen soll (?), und titriert in dem kupferfreigewaschenen Niederschlage das Kupfer mit Cyanidlösung.

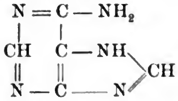
Mallet[2]) fällt 100 ccm Harn mit 10 ccm 16 %iger Sodalösung und 82 ccm Filtrat durch 5 ccm Kupferlösung und 20 ccm einer Lösung, welche im Liter 100 g Thiosulfat und 100 g Seignettesalz enthält. Der Niederschlag wird alkalifrei gewaschen, in 500 ccm Wasser verteilt, mit 5 ccm konzentrierter Schwefelsäure versetzt und mit n/10-Permanganatlösung titriert. (Auch das letztere Vorgehen ist als eine Harnsäurebestimmung gedacht.)

B. Die Purinbasen.

I. Die einzelnen Purinbasen.

1. Adenin.

6-Aminopurin, $C_5H_5N_5$. Mol.-Gew. 135,05. C = 44,44%; H = 3,71%; N = 51,85%.



Es wurde von Kossel[3]) im Pankreas entdeckt.

Vorkommen: Gebunden in der Nucleinsäure, frei: in den Teeblättern[4]), im Zuckerrübensaft[5]), in Bambusschösslingen[6]), im Harn[7]), in den Fäces[8]), im Steinpilz (Boletus edulis)[9]). Stadthagen hat es in 10 Liter leukämischen Harns aufgefunden, in ebensoviel normalen Harn war es dagegen nicht nachweisbar[10]).

Es entsteht synthetisch aus Trichlorpurin durch Behandeln mit Ammoniak und nachträgliche Reduktion mit Jodwasserstoff[11]), ferner nach Traube[12]) in folgender Weise: Aus Thioharnstoff und Malonitril entsteht bei Gegenwart von Natriumalkoholat das entsprechende Thiopyrimidin, welches mit salpetriger Säure ein Isonitrosoderivat liefert. Dieses geht durch Schwefelammon reduziert in Triaminothiopyrimidin

---

1) L. Monfet, C. r. soc. biol. **32**. 1016. 1900.

2) Ann. ch. appl. **4**. 82; Chem. Zentralbl. 1899. I. 906. J.T. 29.

3) B. B. **18**. 78. 1885; Zeitschr. f. ph. Ch. **10**. 250. 1886; **12**. 241. 1888. — Schindler, ebenda, **13**. 432. 1889.

4) Krüger, Zeitschr. f. ph. Ch. **16**. 161. 1892.

5) Lippmann, B. B. **29**. 2651. 1896.

6) Totani, Zeitschr. f. ph. Ch. **62**. 113. 1909.

7) Krüger und Salomon, Zeitschr. f. ph. Ch. **24**. 1898.

8) Krüger und Schittenhelm, ebenda, **35**. 153. 1902.

9) Yoshimura, Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genussmitt. **20**. 153. 1910.

10) Virchows Arch. **109**. 415.

11) E. Fischer, B. B. **30**. 2226. 1897.

12) Ann. d. Ch. u. Pharm. **331**. 64. 1904.

Digitized by Google

über, dessen mit Ameisensäure erhältliche Formylverbindung beim Erhitzen in 6-Aminothiopurin übergeht. Durch Behandeln mit Wasserstoffperoxyd wird dann Adenin erhalten.

Durch Hydrolyse wird es aus den Nucleinsäuren und dem Adenosin [1]) erhalten.

Nach Adeninfütterung bilden sich beim Hund, Kaninchen und der Ratte in den Nieren Ablagerungen von 6-Amino-2-8-Dioxypurin [2]).

Eigenschaften.

1. Aus verdünnten kalten Lösungen mit $3H_2O$ in langen Nadeln, aus warmen oder unreinen Lösungen amorph oder nur in mikroskopischen, langen, glatten, sechsseitigen, auch büschelförmig gruppierten Prismen (Kossel[3])). Krystallisiert auch wasserfrei in mikroskopisch kleinen wetzsteinförmigen Krystallen (gestreckten Pyramiden, auch in stechapfelförmigen Drusen solcher), beim Übersättigen konzentrierter Lösungen des Chlorids mit Ammoniak (oder kohlensaurem Ammon) oder beim Einleiten von Kohlensäure in eine alkalische Lösung. Beim Umkrystallisieren aus siedendem Wasser erhält man etwas grössere einzelne oder zu Stechapfelformen angeordnete vierseitige Pyramiden, auch häufig Zwillinge nach der Basis, seltener Durchwachsungen (Krüger[4])). Die wasserhaltigen Krystalle werden an der Luft bald undurchsichtig, schneller in der Wärme; die Trübung in wenig Wasser suspendierter Krystalle tritt bei 53° plötzlich ein. Beim Übergiessen mit Säuren werden die Krystalle sofort undurchsichtig (Kossel).

2. Sublimiert bei 220° unzersetzt zu einem rein weissen federähnlichen Aggregat feiner Nadeln, bei 250° unter teilweiser Zersetzung; schmilzt bei 278° noch nicht. Schmelzpunkt unter Gasentwickelung 360—365° [5]).

3. Löst sich in 1086 Teilen kalten Wassers, leicht in heissem. Die Lösung reagiert neutral. Unlöslich in Äther und in Chloroform, etwas löslich in heissem Alkohol; in unreinem Zustand löst es sich schon in kaltem Alkohol. Löst sich in Säuren, auch in Eisessig (Kossel). Sehr leicht löslich in den Alkalihydraten, auch in Ammoniak, in diesem aber schwieriger als das Hypoxanthin. Bei der Digestion mit sehr verdünntem Ammoniak auf dem Wasserbade geht es völlig in Lösung, kann aber danach wieder teilweise ausfallen. Aus den alkalischen Lösungen wird es beim Neutralisieren mit Essigsäure oder beim Einleiten von Kohlensäure abgeschieden. In kohlensaurem Natron löst es sich nur wenig, fällt aber bei der Übersättigung seiner Lösung mit kohlensaurem Natron nur sehr langsam aus (zuweilen erst nach 48 Stunden).

Das Adenin wird in schwefelsaurer Lösung zum Unterschiede von Xanthin, Guanin und Harnsäure in der Hitze von Tierkohle nicht adsorbiert [6]). Es geht scharf in die Hypoxanthinfraktion von Krüger und Salomon und bleibt auch nach dem völligen Abdampfen des Ammoniaks in Lösung [7]).

4. Verbindungen a) mit Basen. Adeninblei, nach dem Trocknen bei 130° $C_5H_3PbN_5$, erhält man nach Krüger [7]) in mikroskopischen, nadelförmigen, glanzlosen Krystallen, wenn man in eine Lösung von 1 Mol. Bleiacetat eine Lösung von 1 Mol. A. in 2 Mol. Natriumhydrat eingiesst. Sehr schwer löslich in Wasser, löslich in überschüssigem Bleiacetat. Mit Bleizucker, Bleiessig oder Bleiacetat und Ammoniak gibt das Adenin keinen Niederschlag. — Eine wässerige A.-Lösung gibt mit Kupfersulfat einen amorphen graublauen Niederschlag, der sich in

[1]) Levene und Jacobs, B. B. 42. 2703. 1909.

[2]) Minkowski, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 41. 406. 1898; Nikolaier, Zeitschr. f. klin. Med. 45. 359. 1902. — Schittenhelm, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 47. 432. 1902. — Ebstein und Bendix, Virchows Arch. 178. 464. 1904.

[3]) Kossel, Zeitschr. f. physiol. Ch. 10. 250. 1886; 12. 241. 1888; 18. 1. 1891.

[4]) M. Krüger, Zeitschr. f. physiol. Ch. 18. 430. 1894.

[5]) E. Fischer, B. B. 30. 2226. 1897.

[6]) F. Barnett und W. Jones, Journ. of biol. Chem. 9. 93. 1911.

[7]) M. Krüger, Zeitschr f. physiol. Ch. 18. 430. 1894.

Digitized by Google

Alkalihydrat hellblau löst; die Lösung scheidet beim Erwärmen allmählich Kupferoxyd ab. Der Niederschlag enthält auf 1 Mol. Schwefelsäure 2 At. Kupfer und ist als ein Gemenge von Adeninkupfer mit Adeninkupfersulfat anzusehen (Krüger [1]). — Adeninkupferoxydul. Die Verbindung entsteht in Gegenwart von Kupfersulfat sowohl durch Bisulfit als Thiosulfat langsam schon in der Kälte, sofort in der Wärme, selbst bei einer Verdünnung von 1 : 65 000 in wenig Sekunden. Der mit Sulfit entstandene Niederschlag enthält noch 0,5 Mol. Schwefelsäure gebunden (Krüger [2])). Löst sich erst in 200 000 Teilen Wasser (Krüger und Wulff [3]). Adenin-Silber $C_5H_4AgN_5$ und $C_5H_3Ag_2N_5$, H_2O erhält man, ausser durch die Digestion des A.-Silbernitrats mit Ammoniak nach Kossel [4]), auch bei der Fällung einer ammoniakalischen Adeninlösung mit Silbernitrat in der Siedehitze; der Gehalt an Silber ist von der Menge des verwendeten Silbersalzes abhängig. Auch wenn man die Lösung mit Silbernitrat vollständig ausfällt, entsteht nach Bruhns [5]) das Gemenge. Durch ammoniakalische Silberlösung wird aber das A. so gut wie vollständig abgeschieden; der Niederschlag löst sich auch bei Siedehitze nur schwer in Ammoniak.

b) Mit Säuren. Die Lösungen der Verbindungen mit Säuren reagieren gegen Lackmus sauer (Bruhns [6])). Das Chlorid $C_5H_5N_5$, HCl, $+ \frac{1}{2}H_2O$ bildet kurze dicke stark glänzende Prismen mit gebrochenen Endflächen, die schiefe Kante bildet mit der langen Seite des Prismas oft einen Winkel von 137° (Kossel); tritt auch in knolligen Aggregaten auf. Löst sich in 41,9 Teilen kaltem Wasser. — Chloroplatinat. Verdünnte Lösungen setzen in der Kälte nach einiger Zeit kleine gelbe Nadeln $(C_5H_5N_5, HCl)_2PtCl_4$ ab; eine konzentrierte Lösung dieses Salzes liefert bei längerem Kochen ein in Wasser sehr wenig lösliches hellgelbes Pulver $C_5H_5N_5$, HCl, $PtCl_4$ (Kossel). — Das Chloraurat $C_5H_5N_5$, HCl, $HAuCl_4$, H_2O wird nach Wulff [7]) beim Vermischen einer konzentrierten Adeninchloridlösung mit Goldchlorid sogleich, oder aus verdünnter Lösung beim Eindampfen in wohl ausgebildeten makroskopischen kurzen dicken glasglänzenden orangefarbenen vierseitigen Prismen mit vierflächiger Zuspitzung erhalten. Das Chloraurat zersetzt sich unter Gasentwickelung bei 215—216°. Das Adenin bildet noch ein zweites Chloraurat, vermutlich $C_5H_5N_5$, $HAuCl_4$, xH_2O; dieses scheidet sich aus der konzentrierten salzsauren Lösung auf Zusatz von Goldchlorid sofort in gelben nadelförmigen Prismen ab und ist bis 250° beständig. — Nitrat $C_5H_5N_5$, $HNO_3 + \frac{1}{2}H_2O$, sternförmig gruppierte Nadeln, in unreinem Zustande grosse Knollen, löst sich in 110,6 Teilen kaltem Wasser. — Das Sulfat $(C_5H_5N_5)_2H_2SO_4 + 2H_2O$, krystallisiert in zwei verschiedenen Formen, löst sich in 153 Teilen kaltem Wasser, leicht in heissem. Das Chlorid und das Sulfat lassen sich aus Wasser unzersetzt umkrystallisieren. Das Sulfat scheidet sich mit $2H_2O$ in tafelförmigen Krystallen aus der mit Ammonsulfat versetzten konzentrierten Lösung des Chlorids langsam ab. — Pyrochromat $(C_5H_5N_5)_2H_2Cr_2O_7$. Aus der heiss bereiteten Lösung von A. in überschüssiger wässeriger Chromsäurelösung scheiden sich beim Erkalten gelbrote sechsseitige Tafeln ab. Schwer in kaltem, leicht in heissem Wasser löslich. Verglimmt auf dem Platinblech unter Funkensprühen (Bruhns, Krüger [8])). — Metaphosphat $C_5H_5N_5$, HPO_3. Selbst eine sehr verdünnte kalt gesättigte Adeninlösung gibt nach Wulff [9]) mit Metaphosphorsäure einen aus äusserst feinen Körnchen oder Häutchen bestehenden Niederschlag. Leicht löslich in Alkalihydrat, auch in Ammoniak und in Natriumphosphat, sowie in verdünnten Säuren, auch in Metaphosphorsäure. — Chloracetat $C_5H_5N_5(CH_2Cl\text{-}COOH)_2$ krystallisiert

[1]) Krüger, a. a. O. **16**. 165.
[2]) Krüger, a. a. O. **18**. 353 u. 355; **20**. 170.
[3]) Krüger und Wulff, Zeitschr. f. physiol. Ch. **20**. 184.
[4]) Kossel, ebenda **12**. 248.
[5]) G. Bruhns, Zeitschr. f. physiol. Ch. **14**. 540.
[6]) Bruhns, ebenda.
[7]) C. Wulff, Zeitschr. f. physiol. Ch. **17**. 507.
[8]) Bruhns, a. a. O. **16**. 12; — Krüger, a. a. O. **16**. 165.
[9]) Wulff, a. a. O. 506 u. 500.

Digitized by Google

nach Krüger[1]) aus der heissen wässerigen Lösung von Adenin und Chloressigsäure in rechtwinkligen Plättchen und vierseitigen zu Sternen vereinigten Prismen. Entsteht auch beim Zusammenschmelzen von A. mit Chloressigsäure auf dem Wasserbade. In Wasser und heissem verdünnten Alkohol leicht, in kaltem Alkohol schwer löslich. Schmilzt bei 162—163° unter Entwickelung von Salzsäure zu einer gelbroten Flüssigkeit. — Oxalat $C_5H_5N_5, C_2H_2O_4 + 2H_2O$. Eine Lösung von Adenin in heisser verdünnter Oxalsäure scheidet beim Erkalten lange feine Nadeln in voluminösen Massen ab; aus sehr verdünnten Lösungen erfolgt die Abscheidung oft erst nach 8—14 Tagen. Das Salz hat nicht immer die angegebene Zusammensetzung. Die Oxalate des Guanins, Xanthins und Hypoxanthins sind leichter löslich und haben ein anderes Aussehen (Kossel). — Pikrat $C_5H_5N_5, C_6H_2(NO_2)_3OH + H_2O$. Salzsaures Adenin wird nach Bruhns[2]) durch Natriumpikrat, freies A. durch Pikrinsäure als Pikrat gefällt. Der flockige hellgelbe Niederschlag löst sich ziemlich gut in kochendem Wasser, beim Erkalten krystallisieren sehr voluminöse Büschel mikroskopisch feiner gelber Nadeln. Die hellgelbe Farbe unterscheidet dieses Salz fast von allen Pikraten der Xanthinbasen, namentlich vom Guaninpikrat. Das Salz zersetzt sich nicht mit Wasser und lässt sich auswaschen (Wulff). Nach dem Trocknen wollige seidenglänzende Masse. Verliert bei 100° schnell Glanz und Krystallwasser, verträgt aber Erhitzen bis 220°. Das Pikrat fällt aus heisser wässeriger Lösung wasserfrei in makroskopischen dunkelgelben Prismen. Es zersetzt sich unter Gasentwickelung bei 279—281°. Verbrennt träge, ohne Verpuffung, unter Hinterlassung von viel Kohle. Löst sich bei 15—20° in 3500 Teilen kaltem Wasser, in heissem Wasser aber und in Alkohol von 96 % bedeutend leichter. Löst sich auch in der äquivalenten Menge Natriumhydrat, etwas weniger leicht in Natriumcarbonat, leicht auch in Natriumphosphat; wegen der Löslichkeit in Lauge gibt A. auch bei grösserer Konzentration mit Natriumpikrat keinen Niederschlag. Verdünnte Säuren lösen das Salz kaum. Eine kalt gesättigte Adeninlösung gibt mit kalt gesättigter Pikrinsäure sofort einen Niederschlag und selbst bei 5—8facher Verdünnung treten die Nadeln noch binnen einer Minute auf. Eine kalt gesättigte Lösung des Salzes scheidet auf Zusatz von 0,1 Volum konzentrierter Natriumpikratlösung in wenig Minuten noch $^5/_7$ des Salzes ab und die Löslichkeit ist dann auf 1 :13750 gesunken. Es fällt mit Natriumpikrat noch in einer Verdünnung von 1 : 13000[3]). Aus dem Pikrat kann man die Basis gewinnen durch Zerlegen des Salzes mit starker Salzsäure und Ausschütteln der Pikrinsäure mit Äther. Zur Isolierung des Adenins aus dem Pikrat schlägt Jones vor[4]): Lösen in 10 % Ammoniak, verdünnen zu 0,5 % Adeningehalt und Fällen mit ammoniakalischer Chlorsilberlösung. Der grösste Teil der Pikrinsäure bleibt im Filtrat. Der gewaschene Niederschlag wird in heissem Wasser mit Salzsäure zerlegt. Beim Abkühlen fällt eine geringe Menge von Adeninpikrat aus, weil auch ein Teil der Pikrinsäure als Silbersalz mitgefällt wird. Die Adeninchloridlösung wird nun mit kleinen Portionen Äther ausgeschüttelt, mit Soda neutralisiert und mit Kupfersulfat-Bisulfit gefällt. Die Fällung wird nach dem Waschen mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das erhaltene Adenin wird aus 5 % Schwefelsäure umkrystallisiert. Die Ausbeuten sind selbst nach zweimaligem Umkrystallisieren nahezu quantitativ[5]). — Silberpikrat $C_5H_4AgN_5, C_6H_2(NO_2)_3OH + H_2O$. Eine kalte wässerige Lösung von Adeninpikrat gibt nach Bruhns l. c. mit Silbernitrat sofort einen amorphen voluminösen gelben Niederschlag; bei Überschuss von Silbersalz bleibt kein A. in Lösung. Fällt man eine siedende Lösung in derselben Weise, so wird der Niederschlag bald krystallinisch. Der amorphe Niederschlag enthält kein Krystallwasser. Ammoniak entzieht der Verbindung Pikrinsäure, unter Hinterlassung von Adeninsilber. — Pikrolonat $C_5H_5N_5 . C_{10}H_8N_4O_5$. Durch Fällen mit alkoholischer Pikrolonsäurelösung, lässt sich aus heissem Wasser umkrystal-

[1]) Krüger, a. a. O. **16**. 166.
[2]) Bruhns, a. a. O. **14**. 536.
[3]) Bruhns, a. a. O. 556.
[4]) Barnett und Jones, Journ. of biolog. Chem. **9**. 93. 1911.
[5]) Barnett und Jones, J. of biol. Ch. **9**. 93. 1911.

Digitized by Google

lisieren. Schmelzpunkt 265° [1]). — Quecksilberpikrat $(C_5H_4N_5)_2Hg + 2C_6H_2(NO_2)_3OH$ mit H_2O und $2H_2O$, fällt als körnig krystallinischer, aus Nadeln bestehender Niederschlag, wenn man eine heisse konzentrierte wässerige Lösung von Adeninpikrat mit Natriumpikrat und Quecksilberchlorid versetzt; das Natriumpikrat bindet die frei werdende Salzsäure, in welcher sich der Niederschlag ziemlich leicht löst. Die Fällung ist keine quantitative. In der Kälte scheint unter gleichen Umständen derselbe Niederschlag zu entstehen (Bruhns [2]). — Eine halbprozentige A.-Lösung gibt nach Krüger [3]) mit Ferro- oder Ferricyankalium auch nach längerem Stehen keinen Niederschlag; Essigsäure scheidet aber aus der mit dem Ferrosalz versetzten Lösung dünne Plättchen, aus der Ferrisalz enthaltenden hellbraune, zu Drusen vereinigte, zweiflächig zugespitzte Krystalle ab.

c) Mit Salzen. Cadmiumchlorid gibt einen Niederschlag, der sich in der Wärme löst und beim Erkalten wieder erscheint; leicht löslich in Ammoniak. — Alkoholische Chlorzinklösung erzeugt einen in Ammoniak löslichen Niederschlag. Behandelt man Adenin mit Zink und Salzsäure in der Kälte und lässt die Lösung über Kali stehen, so scheiden sich Krystalle aus, die sich in Wasser lösen; nach kurzer Zeit setzt diese Lösung schwer lösliche Krystalle von Adenin-Chlorzink ab. Die Krystalle hinterlassen beim Abdampfen mit Salpetersäure einen gelben Rückstand, der beim Erhitzen mit Natronlauge intensiv gelb wird. Reines Adenin gibt auch bei Gegenwart von Chlorzink diese Reaktion nicht. Das Doppelsalz bildet sich nicht aus salzsaurem Adenin und Chlorzink. — Quecksilberchlorid und Quecksilbernitrat geben im heissen Wasser unlösliche, in Salzsäure leicht lösliche Niederschläge (Kossel). Eine Verbindung $C_5H_4N_5$-Hg-Cl entsteht als weisser feinkörniger Niederschlag, wenn man eine siedende wässerige Adeninlösung allmählich mit konzentrierter Sublimatlösung versetzt (Bruhns [4])); die bei der Bildung des Salzes frei werdende Salzsäure hält solches Salz in Lösung, das durch Neutralisieren mit Soda abgeschieden werden kann (Krüger [5]). Ammoniakwasser entzieht der Verbindung Chlor und verwandelt sie vielleicht in $C_5H_4N_5$-Hg-OH. Bei der Fällung der siedenden Lösung mit viel überschüssigem Quecksilberchlorid und der zur Lösung nötigen Menge Salzsäure, oder bei der Fällung in der Kälte entsteht eine Verbindung $C_5H_4N_5$-HgCl + $HgCl_2$. Fällt man in Gegenwart von viel Salzsäure, so entstehen Doppelsalze von salzsaurem Adenin mit 1—6 Mol. $HgCl_2$, die beim Kochen mit Wasser zu $C_5H_4N_5$-Hg-Cl + $HgCl_2$ werden (Bruhns). — Adeninquecksilbercyanid $(C_5H_5N_5)_2Hg(CN)_2$ krystallisiert nach Bruhns [6]) aus einer heissen Lösung von Adenin und Quecksilbercyanid in sternförmig gruppierten Nadeln und Plättchen. — Jodwismut-Adenin $C_5H_5N_5$, HJ, $2BiJ_3$, H_2O; entsteht nach Bruhns [7]) bei Zusatz von Jodwasserstoff enthaltender Jodwismutkaliumlösung zu einer wässerigen Adeninlösung als Niederschlag glänzender hellroter Nadeln. Zersetzt sich mit viel Wasser zu rotgelben amorphen Flocken, wird beim Trocknen an der Luft tiefrot, bei 100° braunrot. — Salpetersaures Adenin-Silber, $C_5H_5N_5$, $AgNO_3$, krystallisiert aus der Lösung in heisser Salpetersäure von 1,1 Dichte beim Erkalten in mehrere Millimeter langen Krystallen, die sich beim Auswaschen mit Wasser anscheinend unter Verlust von Salpetersäure, beim Auswaschen mit verdünnter Salpetersäure unter Verlust von Silber zersetzen (Kossel [8])). Nach Bruhns [9]) erhält man beim Fällen von A. mit Silbernitrat immer Gemenge von Verbindungen mit 1 und mit 2 $AgNO_3$; der Niederschlag enthält um so mehr Silber (bis 39,8 %), je mehr Silbernitrat bei der Fällung oder Krystallisation zugegen war, aber auch bei Überschuss an A. in der Lösung enthält die Verbindung nicht weniger als 36,7 % (statt 35,4). Das

1) P. A. Levene, Biochem. Zeitschr. **4**. 320. 1907.
2) Bruhns, a. a. O. 571.
3) Krüger, Zeitschr. f. physiol. Ch. **16**. 165.
4) Bruhns, a. a. O. 567.
5) Krüger, a. a. O. **18**. 431.
6) Bruhns, a. a. O. 573.
7) Bruhns, a. a. O. 574.
8) Kossel, Zeitschr. f. physiol. Ch. **10**. 257.
9) Bruhns, a. a. O. 552.

Digitized by Google

Waschwasser reagiert auf Lackmus sehr lange sauer und enthält auch Silber. In einem mit Salpetersäure gewaschenen Salz fand Kossel nur 27,99 % Ag. In Salpetersäure von 1,1 Dichte löst es sich, bei Gegenwart von überschüssigem Silbernitrat, ungefähr ebenso wenig, wie die Hypoxanthinverbindung. Bei der Behandlung dieser Salze mit Ammoniak erhält man Gemenge von $C_5H_4AgN_5$ und $C_5H_3Ag_2N_5$; werden sie mit nur mässigen Mengen Ammoniak behandelt, so geht Adenin nicht merklich in Lösung.

d) Adenin gibt auch Verbindungen mit anderen Purinen. Adenin-Hypoxanthin $C_5H_5N_5 . C_5H_4N_4O$ scheidet sich nach Bruhns[1]) aus der heissen Lösung gleicher Gewichtsteile beider Basen beim Erkalten als kleisterähnliche durchscheinende Masse aus, die bei längerem Verweilen in der Flüssigkeit zum Teil kreideweiss wird. Löst sich in warmem Wasser ziemlich gut und schneller als gleichzeitig ausgeschiedenes A. Aus der Lösung in starkem Ammoniak krystallisiert die Verbindung mit $3H_2O$ in perlenartigen Aggregaten sehr kleiner radial gestellter Nadeln. Bildet ein einheitliches Chlorhydrat, das aber mit Goldchlorid sofort Adeninchlorgold liefert. Aus der Lösung des Sulfats und Nitrats krystallisiert zuerst das (schwerer lösliche) Adeninsalz. Die Basen lassen sich auch durch Pikrinsäure trennen. — Adenin-Theobromin, $C_5H_5N_5 . C_7H_8N_4O_2 + 4\frac{1}{2}H_2O$. Aus einer heissen wässerigen Lösung von Theobromin mit mehr als 1 Mol. Adenin krystallisiert nach Krüger[2]) die Verbindung in langen, sehr feinen seidenglänzenden Prismen. Leicht löslich in heissem Wasser, schwerer in kaltem. Zersetzt sich teilweise beim Umkrystallisieren aus Wasser unter Ausscheidung von Theobromin. Pikrinsäure fällt aus der Lösung Adeninpikrat.

e) Die NH_2-Gruppe des Adenins lässt sich acetylieren und benzoylieren, die freien H-Atome sind leicht durch Alkyle, Aryle und Halogene zu ersetzen. Das N-Atom an Stelle 7 reagiert mit Diazokörpern, in dem das H-Atom als Wasser abgespalten wird, unter Bildung einer Diazoamidoverbindung[3]). Diazobenzolsulfosäure-Adenin $C_5H_4N_4N . N = N - C_6H_4SO_3H$. Braunrote Krystalle, bei 270° noch nicht geschmolzen, wenig löslich in Alkohol und Äther, löslich in kaltem Wasser und Alkalien. Heisses Wasser zersetzt. Ein Überschuss von Lauge ist schädlich. Man löst 5 g Adenin in 74 ccm N-Lauge, d. i. auf ein Mol. Adenin 2 Mol. Natriumhydrat und mischt unter Eiskühlung mit einer Aufschwemmung von 6,8 g Diazobenzolsulfosäure in 50 ccm Wasser, hierauf setzt man 36,5 N-Schwefelsäure zu, sodass nur ein Mol. Natriumhydroxyd zurückbleibt und giesst in 75 ccm 20 %ige Schwefelsäure ein. Die entstandene braune Fällung wird in einer Mischung von 50 g Schwefelsäure und 18 Wasser gelöst und in 300 ccm Wasser eingegossen. Nun krystallisiert die Verbindung aus[3]).

5. Zersetzungen. Adenin kann nach Kossel[4]) stundenlang mit Barytwasser, Kalilauge oder Salzsäure gekocht werden, ohne angegriffen zu werden. Bei Temperaturen über 100° erfolgt völlige Zersetzung. Beim Erhitzen mit rauchender Salzsäure auf 180—200° zerfällt es nach Krüger[5]) in Glykokoll, Ammoniak, Kohlensäure und Ameisensäure nach der Gleichung $C_5H_5N_5 + 8H_2O = C_2H_5NO_2 + 4NH_3 + CO_2 + 2H.COOH$. Wird es mit festem Kaliumhydrat auf 200° erhitzt, so liefert es reichlich Blausäure. Beim Kochen mit Permanganat erweist es sich nach Krüger[6]) sehr beständig, wird aber nach Kossel bei starker Oxydationswirkung zerstört. Selbst bei langdauerndem Kochen mit Chromsäure erleidet es keine Veränderung (Krüger[7]). Brom führt (trockenes) Adenin nach Krüger[8]) in bromwasserstoffsaures Bromadenin $C_5H_4BrN_5$, HBr über. — Salpetrige Säure verwandelt es in Hypoxanthin (Kossel, Krüger[9]); selbst grössere Mengen Harnstoff neben wenig salpetriger

[1]) Bruhns, a. a. O. 561.
[2]) Krüger, Zeitschr. f. physiol. Ch. **21**. 277.
[3]) R. Burian, Zeitschr. f. ph. Ch. **51**. 425. 1907.
[4]) Zeitschr. f. ph. Ch. **12**. 248.
[5]) Krüger, Zeitschr. f. physiol. Ch. **16**. 167.
[6]) Krüger, a. a. O. **19**. 425.
[7]) Krüger, a. a. O. **18**. 166.
[8]) Krüger, a. a. O. **16**. 330.
[9]) Kossel, a. a. O. **10**. 258. — Krüger, Zeitschr. f. physiol. Ch. **18**. 444

Digitized by Google

Säure hindern diese Zersetzung nicht völlig (Krüger[1]). Durch Natriumamalgam sowie durch Kochen mit Zinnchlorür wird das Adenin nach Kossel nur sehr langsam oder gar nicht angegriffen. Durch Bakterien und Fermente (S. 940) wird es zunächst in Hypoxanthin umgewandelt und dann weiter vollständig zerstört.

Darstellung. Am besten erfolgt die Darstellung aus der Teelauge. Die Mutterlaugen von der Kaffeindarstellung werden mit Kupfersulfat und Bisulfit in der Hitze gefällt, die Fällung gut gewaschen, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das abgeschiedene Adenin aus 5%iger Schwefelsäure umkrystallisiert[2]).

Nachweis.

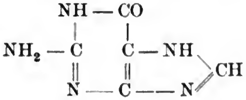
a) Durch Zink und verdünnte Salzsäure wird das Adenin in einen Körper übergeführt, der in neutraler oder alkalischer Lösung unter Aufnahme von Sauerstoff rot oder braunrot wird. Dieses der Azulminsäure ähnliche Produkt gibt mit konzentrierten Säuren leicht grün und braun schillernde Lösungen; auch in Ammoniak und den fixen Alkalien löst es sich leicht (Kosselsche Probe). Die zu untersuchende Probe wird mit Zink und Salzsäure $1/2$ Stunde auf dem Wasserbade erwärmt, es entsteht eine purpurrote Färbung[3]), die beim Verdünnen mit Wasser und Übersättigen mit Natronlauge in rot und rotbraun übergeht (Unterschied von Guanin und Caffein). Hypoxanthin gibt dieselbe Reaktion.

b) Eine halbprozentige wässerige Adeninlösung wird durch Eisenchlorid stark rot, beim nachfolgenden Kochen aber nicht verändert (Krüger[4]).

Dampft man A. mit verdünnter oder rauchender Salpetersäure auf dem Wasserbade ein, so bleibt ein weisser oder gelblicher Rückstand, der sich weder mit Ammoniak noch mit Kalilauge oder Bariumhydrat färbt (Kossel, Bruhns[5]), auch die Weidelsche Probe gibt es nicht (Kossel).

2. Guanin.

2-Amino-6-Oxypurin. $C_5H_5N_5O$. Mol.-Gew. 151,08. C = 39,73 %; H = 3,31 %; N = 46,35 %; O = 10,61 %.



Das Guanin wurde von Unger im Jahre 1845 im Guano entdeckt[6]).

1) Krüger, a. a. O. 21. 274.

2) Krüger, Zeitschr. f. ph. Ch. 16. 161. 1892; 18. 423. 1894; 21. 274. 1895/96.

3) Kossel, Zeitschr. f. ph. Ch. 12. 241. 1888. E. Fischer B. B. 30. 2226. 1897.

4) Zeitschr. f. ph. Ch. 21. l. c.

5) Kossel, a. a. O. 10. 255. — Bruhns, a. a. O. 14. 539.

6) Liebig's Ann. 51. 395. 1844; 58. 18. 1846; 59. 58. 1848; Poggendorffs Ann. 65. 222. 1845. — Gorup-Besanez und Will, Ann. d. Ch. u. Pharm. 69. 117. 1849.

Vorkommen: Gebunden in der Nucleinsäure, frei in den Exkrementen der Kreuzspinne [1]), im Knorpel, in den Muskeln und Ligamenten [2]), in der Hefe [3]), in der Leber [4]), in der Haut von Amphibien und Reptilien [5]), in den Schuppen und Schwimmblasen der Fische [6]), im Auge der Fische [7]), in den menschlichen Fäces [8]), in der Heringslake [9]), im Harne und in den Organen des Schweines bei der Guaningicht [10]), im menschlichen Harn namentlich bei Fieber und Nervenaffektionen (Pouchet, Baginsky [11]). Im normalen Schweineharn scheint es zu fehlen (Schittenhelm), wurde aber von Pecile und von Salomon gefunden [12]).

Synthesen: Nach Fischer [13]). Aus Trichlorpurin entsteht beim Erhitzen mit Alkali 6-Oxy-2-8-dichlorpurin. Dieses geht mit alkoholischem Ammoniak in Chlorguanin über, welches durch HJ reduziert Guanin liefert. Nach Traube [14]). Cyanessigsäureäthylester und Guanidin gehen beim Stehen mit Alkali in 2-4-Diamino-6-oxypyrimidin über, dieses liefert mit salpetriger Säure ein Isonitrosoderivat, welches durch Schwefelammon reduziert 2-4-5-Triamino-6-oxypyrimidin ergibt. Die mit Ameisensäure hieraus erhaltene Formylverbindung verwandelt sich beim Erhitzen in Guanin.

Eigenschaften:

1. Aus seinen konzentrierten sauren oder alkalischen Lösungen fällt es beim Übersättigen amorph aus. Krystallisiert erhält man es nach Horbaczewski [15]), wenn man eine alkalische heisse sehr verdünnte Lösung (1 : 2000) mit $\frac{1}{3}$ Vol. Alkohol vermischt und darauf mit Essigsäure übersättigt. Die Krystalle bestehen aus kugeligen oder garbenförmigen dichten, dem Kreatininchlorzink ähnlichen Aggregaten von Prismen und Pyramiden. Trocken stellen sie ein weisses mattes Krystallpulver dar. Aus einer ebenso verdünnten aber alkoholfreien Lösung fällt das Guanin nicht so schön krystallisiert aus. Abbildung nach Horbaczewski.

2. Das krystallisierte Guanin ist wie das amorphe wasserfrei. Unlöslich in Wasser. Wenig löslich in Ammoniak, reichlicher in der Wärme als in der Kälte;

[1]) Lieb. Ann. **51**. 395. 1844; **58**. 18. 1846; **59**. 58. 1846; Poggendorffs Ann. **65**. 222. 1845. — Gorup-Besanez und Will, Ann. d. Ch. u. Pharm. **69**. 117. 1849.

[2]) Virchows Jahresber. über die Fortschritte der Ch. **19**. 721, 1866; Virchows Arch. **35**. 358. **36**. 147. 1866.

[3]) A. Kossel, Zeitschr. f. ph. Ch. **6**. 431. 1882.

[4]) A. Kossel, ebenda, **7**. 19. 1882/83; **8**. 406. 1883/84.

[5]) Ewald und Krukenberg, Zeitschr. f. Biol. **1**. 154. 1883.

[6]) Voit, Zeitschr. f. wiss. Zool. **15**. 515. 1865. — Bethe, Zeitschr. f. ph. Ch. **20**. 472. 1895.

[7]) Kühne und Sewall, Untersuch. a. d. phys. Inst. Heidelberg **3**. 223. 1880.

[8]) Krüger und Schittenhelm, Zeitschr. f. ph. Ch. **35**. 158. 1902.

[9]) Isaac, Hofmeisters Beitr. z. ch. Phys. u. Path. **5**. 500. 1904.

[10]) Virchow, l. c. — Pecile, Ann. d. Ch. u. Pharm. **183**. 141. 1876.

[11]) Contrib. à la connaiss. des matieres extract. de l'urine. Thèse Paris 1880. — Baginsky, Zeitschr. f. ph. Ch. 8. 397.

[12]) Pecile, l. c. — Salomon, Du Bois Arch. 1884. 175. — Virch. Arch. **95**. 527.

[13]) B. B. **30**. 1116. 1897.

[14]) B. B. **33**. 1371. 1900.

[15]) Horbaczewski, Zeitschr. f. physiol. Ch. **23**. 229. 1897.

Digitized by Google

nach Wulff bleiben in 100 ccm 1 %igem Ammoniak 9 mg Guanin gelöst, in 100 ccm 3 %igem Ammoniak 15 mg, in 5 %igem 19 mg. Unlöslich in Piperazinlösung (Salkowski [1])). Leicht löslich in Alkalihydrat. Auch löslich in konzentrierten Mineralsäuren, jedoch nur bei grossem Überschuss derselben, dagegen nicht in Ameisensäure und in Essigsäure (Neubauer und Kerner) oder anderen organischen Säuren.

3. Verbindungen a. mit Basen. Aus einer bei 30—35° bereiteten Lösung von Guanin in konzentriertem Ammoniak setzen sich nach Drechsel beim freiwilligen Verdunsten mehr oder minder deutliche, anscheinend rhombische Tafeln und Nadeln ab. Bei der Digestion von Guanin mit Ammoniak erhielt Kossel eine bei 110° beständige Verbindung von Guanin-Ammoniak $C_5H_5N_5O.NH_3$. — Der Verbindung mit Natron erteilt Unger die Formel $C_5H_5N_5O$, Na_2O, $3H_2O$; sie wird durch Kohlensäure und schon durch Wasser zersetzt und löst sich nach Salomon [2]) im Gegensatz zu den Natriumverbindungen des Hetero- und Paraxanthins in konzentrierter Lauge. Eine Lösung von Guanin in Lauge gibt mit Salmiak sofort einen Niederschlag, sobald das Alkalihydrat durch den Salmiak übersättigt ist (Huppert). — In Gegenwart von Kupfersulfat wird das Guanin durch Bisulfit in der Kälte und in der Wärme, durch Thiosulfat in der Kälte sofort als Kupferoxydulverbindung gefällt (Krüger [3])).

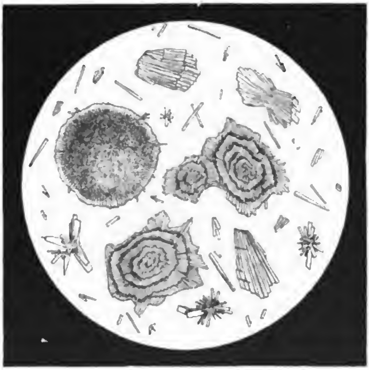


Fig. 43.

b) Mit Säuren. Aus der Lösung des Guanins in verdünnter Salzsäure krystallisiert das Chlorid $C_5H_5N_5O, HCl + 2H_2O$ (Scherer) in makroskopischen, feinen langen, vierseitigen, strahlenförmig angeordneten Nadeln, die in Berührung mit Wasser sofort in Salzsäure und Guanin zerfallen, verliert in höherer Temperatur die Salzsäure vollständig (Wulff). — Das Chlorplatinat $C_5H_5N_5O$, HCl, $PtCl_4$ (?) bildet pommeranzengelbe schwer lösliche Nadeln. — Ein Aurochlorid wie das Adenin gibt das Guanin nach Kossel und nach Wulff nicht. — Das Nitrat $C_5H_5N_5O, HNO_3 + 1\frac{1}{2}H_2O$ krystallisiert aus der heissen Lösung von Guanin in verdünnter Salpetersäure beim Erkalten in langen, sehr feinen haarförmigen, verfilzten Nadeln (Unger), beim Verdunsten der Lösung in schönen sechsseitigen Plättchen (Pecile) oder in vier- und sechsflächigen Prismen (Kossel). — Das Sulfat $C_5H_5N_5O$, $H_2SO_4 + H_2O$ setzt sich aus der Lösung des Guanins in verdünnter heisser Schwefelsäure in oft Zentimeter langen Nadeln ab; zerlegt

[1]) C. Wulff, Zeitschr. f. physiol. Ch. 17. 505. 1892. — Salkowski, Pflügers Arch. 56. 349. 1894.

[2]) Drechsel, Journ. f. prakt. Ch. [2]. 24. 44. 1881. — Kossel, Zeitschr. f. physiol. Ch. 7. 17. 1882. — Unger, Ann. d. Ch. u. Pharm. 59. 68. 1846. — Salomon, Virchows Arch. 125. 559.

[3]) Krüger, Zeitschr. f. physiol. Ch. 18. 354 u. 355.

Digitized by Google

sich mit Wasser. — Das Pyrochromat $(C_5H_5N_5O)_2$, $H_2Cr_2O_7$ scheidet sich aus einer Lösung von salzsaurem Guanin auf Zusatz von Kaliumpyrochromat langsam in glänzenden, orangefarbenen, mikroskopischen Prismen mit meist abgestumpften Endflächen aus, ebenso aus einer Lösung von Guanin in heisser Chromsäurelösung. Zersetzt sich mit Wasser, schneller in der Wärme. Verliert bei 100° (gegen ½ Mol.) Wasser. Zerstäubt auf dem Platinblech unter Funkensprühen (Capranica, Wulff). — Metaphosphat $C_5H_5N_5O$, HPO_3. Wasserhaltig. Versetzt man nach Pohl salzsaures Guanin mit Natriummetaphosphat oder nach Liebermann[1]) eine Lösung von Guanin in Natronlauge mit Metaphosphorsäure, so wird die Flüssigkeit selbst bei äusserster Verdünnung der Guaninlösung sofort milchig und gibt nach längerer Zeit einen flockigen Niederschlag, der anfangs durchs Filter geht und es dann verstopft. Entsteht auch auf Zusatz von Metaphosphorsäure zu einer sauren Guaninlösung. Äusserst feine Häute. Mehr oder weniger krystallinisch fällt das Salz aus siedend heisser verdünnter Lösung. Leicht löslich in Alkalien, schwer, der Löslichkeit des Guanins entsprechend, in Ammoniak, beim Erwärmen löslich in verdünnter Säure. Die Lösung in Lauge gibt beim Übersättigen mit Säure solang einen Niederschlag des ursprünglichen Salzes, als die Metaphosphorsäure nicht in Orthophosphorsäure übergegangen ist. Konzentrierte Salzlösungen, namentlich Magnesiumsulfat lösen es in geringem Grade, sie verlangsamen daher die Abscheidung. Die Fällung ist in allen Fällen eine so vollständige, dass Pikrinsäure im Filtrat keinen, Silberlösung einen geringen Niederschlag gibt. Trocken weisses Pulver oder (die amorphe Verbindung) feste porzellanartige Masse. Verbrennt äusserst schwer unter Hinterlassung von viel Kohle (Wulff). — Pikrolonat $C_5H_5N_7O.2(C_{10}H_8N_4O_5)$[2]). Beim Versetzen einer Lösung mit alkoholischer Pikrolonsäurelösung fällt zum Unterschiede vom Adenin kein Guanin aus, erst auf Zusatz von Natronlauge. — Pikrat $C_5H_5N_5O.C_6H_2(NO_2)_3OH + H_2O$ (Wulff). Kalt gesättigte Pikrinsäurelösung scheidet aus salzsaurem Guanin allmählich lockere orangegelbe Flocken, welche sich unter dem Mikroskop als pinsel- und farnkrautähnliche Bündel sehr feiner Nadeln erweisen, oder sparrige Drusen grosser Nadeln ab; aus Lösungen mit überschüssiger Salzsäure setzt sich zuerst Pikrinsäure ab (Capranica). Die Ausscheidung erfolgt noch bei einer Verdünnung von 1 : 30 000, aber erst nach längerer Zeit. Aus alkalischer Lösung fällt die Pikrinsäure das Guanin auf Zusatz von Essigsäure. Reichlich löslich in heissem Wasser; zersetzt sich in Berührung mit Wasser und mit Alkohol (Wulff). Lufttrocken goldgelb, verfilzt, seidenglänzend. Wird beim Erhitzen dunkler, fast orangerot, nimmt beim Erkalten die ursprüngliche Farbe wieder an. Verliert bei 120° mit dem Krystallwasser seinen Glanz und wird hellgelb, beginnt sich bei 190° zu zersetzen und verkohlt. Verbrennt mit Flamme unter Hinterlassung von viel Kohle (Wulff). — Silberpikrat $C_5H_4AgN_5O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH + 1\frac{1}{2}H_2O$. Eine siedend heisse verdünnte Pikratlösung (G. in Mineralsäure und überschüssiger Pikrinsäure) gibt mit Silbernitrat (bei Abwesenheit von Salzsäure) sofort einen zitronengelben, voluminösen, amorphen Niederschlag. In heissem Wasser sehr schwer löslich, in kaltem nahezu unlöslich. Wasser entzieht dem Salze etwas Pikrinsäure, Ammoniak leicht fast alle Pikrinsäure (Wulff). — Ferricyanwasserstoffsaures G. $(C_5H_5N_5O)_4$, $H_3Fe(CN)_6 + 8H_2O$ (Wulff). Ferricyankalium fällt aus salzsaurem G. in einiger Zeit mikroskopisch kleine, glänzende, gelbbraune, schwer lösliche Krystalle (Capranica), vier- oder sechsseitige Prismen mit zwei Endflächen, von denen die eine bedeutend grösser ist. Verliert das Krystallwasser langsam bei 120°—130° und wird dabei dunkelgrün (Wulff). — Ferrocyanwasserstoffsaures G. bildet fast farblose Krystalle (Wulff). — Nitrosoferricyanwasserstoffsaures G. $(C_5H_5N_5O)_2.H_2(CN)_5NOFe + 1\frac{1}{2}H_2O$. Salz-

[1]) Wulff, Zeitschr. f. physiol. Ch. **17**. 479 u. 508. — Capranica, Zeitschr. f. physiol. Ch. **4**. 233. 1880. — Wulff, a. a. O. 477. — Pohl, Zeitschr. f. physiol. Ch. **13**. 296. — Liebermann, Zentralbl. f. d. med. Wiss. 1889. 226.
[2]) P. A. Levene, Biochem. Zeitschr. **4**. 1907.

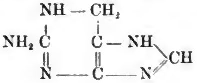
Digitized by Google

saures G. gibt mit Nitroprussidnatrium nach einiger Zeit ziemlich grosse glänzende, hellziegelrote Krystalle, mikroskopische vierseitige Säulen mit zugespitzten Enden (Wulff).

c) Mit Salzen. Guanin-Chlorzink $(C_5H_5N_5O.HCl)_2ZnCl_2 + 3H_2O$, entsteht nur beim Eintragen von salzsaurem Guanin in warmes sirupdickes Chlorzink. Weisses Krystallmehl oder schöne wasserhelle Krystalle, löslich in Salzsäure und Natronlauge, wenig in Wasser. — G.-Chlorcadmium, perlglänzende weisse, in Salzsäure und in Wasser lösliche Plättchen bei Versetzen von salzsaurem Guanin mit überschüssigem Chlorcadmium. — G.-Quecksilberchlorid $C_5H_5N_5O, HgCl_2 + 2\frac{1}{2}H_2O$, weisses Krystallmehl von mikroskopischen kurzen Prismen, beim Zusatz wässeriger Sublimatlösung zu salzsaurem Guanin, leicht löslich in Säuren und in Cyankalium. Bei Verwendung alkoholischer Sublimatlösung fällt $(C_5H_5N_5O.HCl)_2HgCl_2 + H_2O$ (Neubauer und Kerner). — Jodwismut-G. $C_5H_5N_5O.HJ, 2BiJ_3 + 2H_2O$. G. wird selbst aus sehr verdünnter, saurer (jodwasserstoffsaurer) Lösung durch Jodwismutkalium gefällt. Mikroskopisch feine, ziemlich lange rote Nadeln, lufttrocken lockere tiefrote Masse. In der warmen Mutterlauge löslich, zersetzt sich mit Wasser und färbt sich dabei ziegelrot. Wird schon unterhalb 100° unter Wasserverlust schwarzviolett (Wulff). — Salpetersaures Guaninsilber $C_5H_5N_5O, Ag NO_3$ fällt aus einer Lösung von Guanin in Salpetersäure auf Zusatz von Silbernitrat, löst sich in heisser salpetrigsäurefreier Salpetersäure von 1,1 Dichte nur wenig und fällt bald wieder krystallinisch aus; beim Kochen mit starker reiner Salpetersäure löst es sich vollständig und scheidet sich beim Erkalten fast vollständig wieder ab (Strecker, Pecile).

d) Wie das Adenin gibt das Guanin ein Acethyl- und Benzoylderivat und eine Diazoamidoverbindung mit Diazobenzolsulfosäure. Diazobenzolsulfosäure-Guanin: $(C_5H_5N_4O)N.N = N - C_6H_4HSO_3$[1]). Guanin wird in verdünntem Barytwasser gelöst, mit Diazobenzolsulfosäure versetzt und die Verbindung mit Essigsäure gefällt. Aus Essigsäure umkrystallisiert, lange gelbrote Nadeln, die sich bis 270° ohne Veränderung erhitzen lassen. Löslich in Wasser, wenig löslich in Alkohol, unlöslich in Äther und Benzol. In Alkalien, Ammoniak und Barytwasser mit tiefroter Farbe löslich.

4. Zersetzungen. Mit Wasser lässt sich Guanin bis 250°, ohne eine Zersetzung zu erleiden, erhitzen. Mit Kaliumchlorat und Salzsäure oxydiert, zerfällt es in Guanidin und Parabansäure [2]). Durch salpetrige Säure wird es in Xanthin übergeführt. Dieselbe Desaminierung erleidet es durch gewisse Fermente des Wirbeltierorganismus (s. o. S. 908) und durch Fäulnis [3]), sowie beim Erhitzen mit 25 %iger Salzsäure auf dem Rückflusskühler [4]). Durch gewisse Bakterien wird es in Harnstoff, Guanidin und Kohlensäure gespalten [5]). Beim Erhitzen mit konzentrierter Salzsäure wird es nach Wulf [6]) in Glycocoll, Ammoniak, Kohlensäure und Ameisensäure zerlegt. Bei der elektrolytischen Reduktion liefert es Desoxyguanin [7]).



[1]) R. Burian, Zeitschr. f. ph. Ch. **51**. 425. 1907. — B. B. **37**. 696. 1904.
[2]) Strecker, Ann. d. Ch. u. Pharm. **118**. 155. 1861.
[3]) Schindler, Zeitschr. f. ph. Ch. **13**. 441. 1889; vgl. auch Schittenhelm und Krüger.
[4]) E. Fischer, B. B. **43**. 805. 1910.
[5]) Ulpiani und Cingolani, Atti della R. ac. dei lincei Roma **14**. II. 596. 1905.
[6]) Zeitschr. f. ph. Ch. **17**. 471.
[7]) J. Tafel, B. B. **34**. 1165. 1170. 1901.

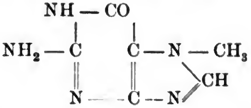
Digitized by Google

Es bildet beim Schmelzen mit Kali keine Blausäure [1]).

Darstellung. Aus Guano [2]). Nach Wulf [3]) wird Peru-Guano mit verdünnter Schwefelsäure extrahiert, das Extrakt mit Lauge alkalisch gemacht und mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt, die gewaschene Fällung wird mit Salzsäure zerlegt, das Filtrat vom Silberchlorid eingeengt und mit Ammoniak gefällt. Das reine Guanin wird aus 20%iger Salpetersäure unter Zusatz von Harnstoff (um die salpetrige Säure unschädlich zu machen) umkrystallisiert. Nach M. Klimmer [4]) werden 4 kg Guano mit Kalkmilch aus 11—12 kg Kalk 3—4 Stunden gekocht, dann 1 kg Soda zugesetzt und noch einige Stunden gekocht. Dann wird heiss abgeseiht, gepresst und filtriert. Der Rückstand wird so lange mit Soda und eventuell Kalk gekocht, so lange im Filtrat auf Salzsäurezusatz eine Fällung von Harnsäure und Guanin erfolgt. Die vereinigten Filtrate werden mit Salzsäure neutralisiert. Es entsteht eine Fällung. Der aus Guanin und Harnsäure bestehende Niederschlag wird gewaschen und mit 10%iger Salzsäure digeriert, wobei das Guanin in Lösung geht und die Harnsäure zurückbleibt. Die braune Lösung des Guanins wird mit Ammoniak gefällt. Das freie Guanin kann, um zurückgebliebene Spuren von Harnsäure zu zerstören, in das Nitrat umgewandelt und dann wieder mit Ammoniak gefällt werden. Man kann auch die Lösung in Alkali mit Kohlensäure oder Essigsäure fällen. Sättigt man die gesättigte Lösung in verdünnter Lauge unter Erwärmen mit Natriumhydrat, so fällt beim Stehen Guaninnatrium aus, welches mit Alkohol gewaschen werden kann. Auch die Fischschuppen (z. B. die von Alburnus lucidus — Burian) eignen sich zur Darstellung.

3. Epiguanin.

7-Methylguanin, 2-Amino-6-oxy-7-methylpurin. $C_6H_7N_5O$.



Vorkommen: Im menschlichen Harn [5]) und in den Nebennieren [6]).

---

[1]) Kossel,

[2]) Strecker, Ann. d. Ch. u. Pharm. 118. 152. 1861. — Neubauer und Kerner, ebenda, 101. 318. 1856.

[3]) Zeitschr. f. ph. Ch. 17. 409. 1893.

[4]) Zeitschr. f. Tiermed. N. F. 2. 100. 1899. J. T. 29.

[5]) Krüger und Wulf, Verhandl. d. phys. Gesellsch. Berlin 1893/94. — Krüger und Salomon, Zeitschr. f. ph. Ch. 24. 385. 1898; 26. 389. 1898/99.

[6]) Okerblom, Zeitschr. f. ph. Ch. 28. 62. 1899.

Digitized by Google

Synthese: Durch Behandeln von 2-Chlor-6-oxy-7-methylpurin mit Ammoniak und nachträgliche Reduktion durch HJ (E. Fischer[1])).

Eigenschaften:

1. Beim Übersättigen der salzsauren Lösung mit Ammoniak scheiden sich sofort feine lange Nadeln ab; krystallisiert langsam aus Wasser in feinen Nadeln, schneller aus ammoniakhaltigem Wasser in seidenglänzenden Prismen. Scheidet sich beim Verdunsten seiner wässerigen Lösung auf der Oberfläche der Flüssigkeit in glänzenden prismatischen Krystallen ab; bei weiterem Einengen und beim Erkalten vermehren sie sich nicht wesentlich. Beim Fällen der Lösung in Natronlauge mit einer Säure tritt die Basis in Prismen auf, die lufttrocken eine verfilzte Masse von mattem Seidenglanz bilden. Einmal wurden beim Fällen einer stark salzsauren Lösung mit Ammoniak wetzsteinförmige Krystalle erhalten, die beim Umkrystallisieren aber wieder in Prismen übergingen. Zersetzt sich über 390° ohne zu schmelzen.

2. Sehr schwer löslich in Wasser und in Ammoniak, leichter in Soda, sehr leicht in verdünnter Natronlauge, auch leicht löslich in heisser 33 %iger Natronlauge. Leicht löslich in Salzsäure und in Schwefelsäure, schwerer in Salpetersäure. Schwer löslich in heissem Wasser, fast unlöslich in kaltem.

3. Verbindungen: a) Mit Basen. Aus der Lösung in heisser 33 %iger Natronlauge krystallisieren beim Erkalten stark glänzende, breite zugespitzte Nadeln. — Die wässerige Lösung wird weder durch die Bleiacetate noch durch Bleiessig und Ammoniak gefällt. Mit ammoniakalischer Silberlösung entsteht eine gallertige Silberoxydulverbindung. Kupfersulfat und Bisulfit geben in der Kälte einen gallertigen, in der Wärme einen flockigen Niederschlag. Kupfersulfat und Thiosulfat rufen erst in der Wärme einen flockigen weissen, sich allmählich bräunenden Niederschlag hervor.

b) Mit Säuren. Das charakteristische Chloroplatinat krystallisiert beim Verdunsten seiner wässerigen Lösung in 2—3 mm langen, sechsseitigen, orangeroten, prachtvoll glänzenden Prismen. — Die salzsaure Lösung gibt mit Goldchlorid sofort einen Niederschlag von gelben feinen Nadeln. Das Chloraurat bildet beim Verdunsten seiner wässerigen Lösung in der Kälte makroskopische glänzende polyedrische Krystalle. — Das Nitrat tritt in kleinen polyedrischen Krystallen auf. — Das Pyrochromat bildet feine glänzende Prismen. — Es scheidet sich auf Zusatz von Kaliumpyrochromat zur Lösung des salzsauren Salzes nach kurzer Zeit in gelben glänzenden feinen vierseitigen Prismen ab. — Das Pikrat scheidet sich beim Erkalten seiner heissen Lösung in gebogenen haarfeinen Nadeln ab. — Noch in einer Verdünnung der Basis von 1 : 1000 gibt konzentrierte Pikrinsäurelösung nach kurzer Zeit einen glänzenden aus rhombischen und sechsseitigen Plättchen bestehenden Niederschlag; aus stärkeren Lösungen fallen sofort feine gebogene, zu Büscheln und Fächern vereinigte Nadeln aus.

c) Mit Salzen. Quecksilberchlorid gibt mit der wässerigen Lösung der Basis erst auf Zusatz von Natriumcarbonat einen weissen flockigen Niederschlag. Eine Lösung von 1 : 5000 bleibt bei Zusatz von wenig Quecksilberchlorid zunächst vollkommen klar, erst eine grössere Menge Reagens ruft eine allmählich zunehmende Trübung hervor.

4. Zersetzungen: Mit Salzsäure und Kaliumchlorat oxydiert liefert Epiguanin Guanidin.

Nachweis:

Das Epiguanin hinterlässt beim Eindampfen mit konzentrierter Salpetersäure einen gelben Fleck, der mit Natronlauge orangerot, beim

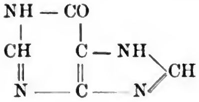
[1]) B. B. 30. 2411. 1897; 31. 542. 1898.

Digitized by Google

nachfolgenden Erwärmen violett wird. Die übrigen Farbenreaktionen der Xanthinbasen fallen negativ aus. Der bei der Murexydprobe mit Natronlauge auftretende orangerote Fleck wird beim Erwärmen dunkler und an einzelnen Stellen violett; die Reaktion ist jedoch mit der des Xanthins an Stärke nicht zu vergleichen. Der beim Eindampfen mit konzentrierter Salzsäure und Kaliumchlorat hinterbleibende weisse Rückstand färbt sich in ammoniakhaltiger Luft violettrot[1]).

4. Hypoxanthin.

Sarkin, 6-Oxypurin. $C_5H_4N_4O$. Mol.-Gew. 136. C = 44,11 %; H = 2,94 %; N = 41,17 %; O = 11,78 %.



Es wurde von Scherer im Jahre 1850 im Herzmuskel und der Milz entdeckt[2]).

Vorkommen: Im Muskel[3]), im Harn[4]), bei Leukämie reichlicher als in der Norm bis 0,027 pro Tag (Stadthagen[5]), im Harn fleischgefütterter Hunde 8,5 mg pro Liter (Baginsky[5]), in den Fäces[6]), in der Kuhmilch, im Fleischextrakt, im Blut bei Leukämie, im Zuckerrübensaft[7]). In den frischen tierischen Organen findet es sich nur in sehr geringer Menge.

Bildung: 1. Trichlorpurin geht durch Alkali in 6-Oxy-2-8-dichlorpurin über, welches bei der Reduktion mit HJ in Hypoxanthin übergeht (E. Fischer[8])). 2. Thioharnstoff und Natriumcyanessigester geben 4-Amino-6-oxy-2-thiopyrimidin, dieses mit salpetriger Säure ein Isonitrosoderivat, welches bei der Reduktion mit Schwefelammon in 4-5-

[1]) Krüger und Salomon, l. c.
[2]) Ann. d. Ch. u. Pharm. **73**. 328. 1850.
[3]) Strecker, ebenda, **108**. 129. 1858.
[4]) Salkowski, Virchows Arch. **50**. 105. 1870. — Salomon, Zeitschr. f. ph. Ch. **2**. 94. 1878; **11**. 410. 1887. — Pouchet, l. c. — Thudichum, Grundzüge d. anat. u. klin. Ch. 1886. 248.
[5]) Stadthagen, Virchows Arch. **109**. 415. — Baginsky, Zeitschr. f. ph. Ch. 8. 398.
[6]) Krüger und Schittenhelm, Zeitschr. f. ph. Ch. **35**. 158. 1902. — Weintraud, Zentralbl. f. i. Med. **16**. 453. 1895. — Petren, Skand. Arch. f. Phys. 8. 315
[7]) Lippmann, B. B. **29**. 2649. 1896.
[8]) B. B. **30**. 2226. 1897.

Digitized by Google

Diamino-6-oxy-2-thiopyrimidin übergeht. Hieraus entsteht beim Erhitzen mit Ameisensäure 6-Oxy-2-thiopurin, welches mit verdünnter Salpetersäure den Schwefel als Schwefelsäure abspaltet und in Hypoxanthin übergeht (Traube[1]). 3. Harnsäure mit Chloroform und Alkali erhitzt geht zum Teil in Hypoxanthin über (Sundvik[2]). 4. Adenin mit salpetriger Säure behandelt spaltet die Aminogruppe unter Hypoxanthinbildung ab[3]).

Eigenschaften:

1. Reines H. krystallisiert nicht in Nadeln, sondern scheidet sich immer am Boden und an der Wand des Gefässes oder auf der Oberfläche der Flüssigkeit als Haut aus, welche aus vorherrschend rundlichen, aber mit scharfen Ecken versehenen Körnchen besteht. Die wenigen gut ausgebildeten Krystalle, häufig Zwillinge, sind quadratischen Oktaedern ähnlich (Bruhns).

2. Ohne Krystallwasser. Gibt beim Erhitzen ohne zu schmelzen ein schwer flüchtiges Sublimat unter Entwickelung von Blausäure.

3. Scheidet sich nur sehr langsam aus verdünnter Lösung ab. Löst sich nach Strecker in 300 Teilen kaltem und 78 Teilen siedendem Wasser, in 900 Teilen siedendem Alkohol, nach Bruhns dagegen erst in 1880 Teilen kaltem Wasser. Die Lösungen reagieren gegen Lackmus nicht alkalisch (Strecker). Die übrigen Löslichkeitsverhältnisse wie beim Adenin; nur löst sich das H. leichter in Ammoniak als dieses; in Piperazinlösung löst es sich wie das Xanthin nach Salkowski leicht. — Durch Sättigen seiner Lösung mit Chlorammon wird es nach Hopkins[4]) nicht gefällt.

4. Verbindungen: a) Mit Basen. H.-Natrium erhielt Salomon durch Verdunsten der konzentrierten Lösung krystallinisch. Das Salz löst sich sofort in konzentrierter Lauge. Kohlensäure fällt aus der Lösung in Alkalien nach Strecker Hypoxanthin. — Zinksalz und Cadmiumsalz fällen eine Hypoxanthinlösung nicht; auf Zusatz von überschüssigem Ammoniak scheiden sich Flocken von H.-Zinkoxyd und H.-Cadmiumoxyd ab, die sich selbst in der kochenden Flüssigkeit nur wenig lösen. — Bleizucker und Bleiessig fällen H. nicht (Strecker), Bleiessig nur dann nicht, wenn die Lösung Bleizucker enthält (Weidel). Durch Bleiacetat und Ammoniak wird das Hypoxanthin aus seinen Lösungen in Form eines gelatinös-flockigen Niederschlags vollständig gefällt (Krüger und Salomon, Zeitschr. f. ph. Ch. **24**. l. c.). Eine Lösung von 1 Mol H. in 2 Mol Natriumhydrat gibt nach Krüger mit Bleizucker einen sich anfangs wieder lösenden amorphen Niederschlag; bei Verwendung von 1 Mol Bleizucker zur Fällung beträgt die Ausbeute 91,5 %. — H. wird durch Kupfersulfat und Bisulfit in der Kälte und in der Wärme gefällt, durch Kupfersalz und Thiosulfat aber nur in der Wärme (Krüger). Die Kupferoxydulverbindung löst sich nach Krüger und Wulff[5]) erst in 250 000 Teilen Wasser. In verdünntem Barytwasser gelöst fällt Hypoxanthin bei Zusatz von gesättigtem Barytwasser aus. H.-Silberoxyd $C_5H_2Ag_2N_4O, H_2O$ entsteht beim Fällen von H. mit ammoniakalischer Silberlösung (Strecker). Weisse Gallerte, so gut wie unlöslich im Wasser, schwer löslich auch in starkem Ammoniak. Verliert bei 120° ½ H_2O (Strecker), muss aber dazu mindestens zwei Stunden getrocknet

[1]) Ann. d. Ch. u. Pharm. **332**. 64. 1904.

[2]) Zeitschr. f. ph. Ch. **23**. 476. 1897; **26**. 131. 1898.

[3]) Kossel, ebenda, **10**. 258. — Krüger, ebenda, **18**. 444.

[4]) Salkowski, Pflügers Arch. **56**. 349. 1894. — F. G. Hopkins, Journ. of Pathol. and Bacteriol. 1893. 452.

[5]) G. Salomon, Virchows Arch. **125**. 559. — Weidel, Ann. d. Ch. u. Pharm. **158**. 362. — M. Krüger, Zeitschr. f. physiol. Ch. **18**. 432. 1894; **18**. 355; **20**. 173. — M. Krüger u. Wulff, Zeitschr. f. physiol. Ch. **20**. 184. 1894.

Digitized by Google

werden. Bei der Behandlung von H.-Silbernitrat mit überschüssigem wässerigen Ammoniak erhält man nach Bruhns[1]) die Verbindung $C_5H_2Ag_2N_4O + 3H_2O$ in mikroskopischen Nadeln; nicht so leicht entsteht sie auf Zusatz von Silbernitrat zu einer siedenden ammoniakalischen H.-Lösung. Die Verbindung löst sich selbst beim Kochen nur wenig in Ammoniakwasser. Bei 120° gibt sie 2½ H_2O ab, bei 140—150° verliert sie noch mehr an Gewicht und wird grau, nimmt aber an feuchter Luft wieder nahezu soviel Wasser auf, als sie verloren hatte.

b) Mit Säuren. Die neutralen Verbindungen mit Säuren reagieren gegen Lackmus sauer (Bruhns). — Eine Lösung von H. in heisser konzentrierter Salzsäure scheidet beim Erkalten farblose perlglänzende Tafeln ab, beim Eindampfen einer Lösung in verdünnter Säure Nadeln, auch mehrere Millimeter lange Prismen $C_5H_4N_4O$, $HCl + H_2O$. Zersetzen sich mit Wasser sofort. Beim Erkalten der salzsauren Lösung krystallisieren vierseitige, zweiflächig zugespitzte Prismen aus. — Das Chloroplatinat bildet gelbe, in warmem Wasser leicht, in kaltem wenig lösliche Krystalle. — Goldchlorid bildet kein dem Adeninchloraurat ähnliches Salz. — Das Nitrat besteht aus grossen, wasserhellen, rechtwinkligen Krystallen, die sich mit Wasser zersetzen. — Vom Nitrat löst sich 1 g in 940 Teilen einer auf das 10fache Volumen verdünnten Salpetersäure von 1,4 Dichte. Eine solche heiss bereitete Lösung setzt beim Erkalten die Verbindung in spitzen wetzsteinförmigen Rhomben ab, konzentrierte Salpetersäure fällt sie aus wässeriger Lösung dagegen in tonnenförmigen Krystallen (den Rhomben ohne Spitzen). — Aus einer Lösung des Hypoxanthins in konzentrierter Schwefelsäure scheiden sich beim Stehen an der Luft oder auf Zusatz von Alkohol farblose Krystallnadeln ab, welche in Wasser zu einem weissen Pulver zerfallen. — Mit Metaphosphorsäure gibt H. keine schwer lösliche Verbindung (Wulff). — Pikrat $C_5H_4N_4O . C_6H_2(NO_2)_3OH + H_2O$ (Wulff). Versetzt man eine warme Lösung von salzsaurem Hypoxanthin mit Pikrinsäure, so setzen sich beim Erkalten und in der Ruhe 3—4 mm lange kaum gelblich gefärbte prismatische Nadeln ab (Capranica[2]). Eine neutrale Hypoxanthinlösung gibt mit Pikrinsäure, eine Lösung von H. in Säure mit Natriumpikrat je nach der Konzentration in kürzerer oder längerer Zeit einen Niederschlag von gelben glänzenden Prismen; eine Lösung von 0,141 g H. in 80 ccm heissem Wasser beginnt beim Erkalten das Pikrat abzuscheiden. Lufttrocken zitronengelbes glänzendes Pulver, verliert bei 100° Krystallwasser und Glanz. Leicht löslich in heissem Wasser, schwer in kaltem Wasser, leicht löslich in Alkalien, auch in Ammoniak (Wulff). Eine kaltgesättigte Lösung in Säure gibt nicht, wie das Adenin, mit Natriumpikrat einen Niederschlag (Bruhns[3])). Das Pikrat erhält man in den von Wulff beschriebenen grossen wohl ausgebildeten Krystallen, wenn man die heisse Lösung eines Hypoxanthinsalzes (des Nitrats) mit Pikrinsäure in geringem Überschuss versetzt und in der Ruhe erkalten lässt. In Gegenwart anderer Basen, wie 1-Methylxanthin, und in der Kälte scheidet sich das Pikrat langsam in kleinen kugeligen, aus spitzen Krystallen bestehenden Aggregaten ab. Schüttelt man eine erkaltete Lösung kurze Zeit kräftig, so erhält man ein schweres, weniger glänzendes Pulver in charakteristischen Formen; die kleineren Krystalle bestehen aus wohlausgebildeten, dicken rhombischen Tafeln, die grösseren sind Wetzsteine mit abgebrochenen Spitzen. Das Pikrat löst sich in ungefähr 400 Teilen kaltem Wasser. Bei 200° beginnt es sich dunkler zu färben, ohne einen bestimmten Schmelz- oder Zersetzungspunkt zu zeigen. Von der Pikrinsäure lässt sich die Basis befreien, wenn man die Lösung des Salzes mit Schwefelsäure versetzt und mit Benzol (oder Toluol) ausschüttelt. — H.-Silberpikrat $C_5H_3AgN_4O$, $C_6H_2(NO_2)_3OH$. Eine siedende Lösung von H.-Pikrat (eine Lösung von H.-Nitrat in Gegenwart

---

[1]) Bruhns, a. a. O. 546.

[2]) G. Bruhns, Zeitschr. f. physiol. Ch. **14**. 540. 1890. — Wulff, Zeitschr. f. physiol. Ch. **17**. 504. 505 u. 499. — Capranica, Zeitschr. f. physiol. Ch. **4**. 233. 1880.

[3]) Bruhns, a. a. O. 540.

von überschüssigem Natriumpikrat) gibt mit neutraler oder schwach saurer Silbernitratlösung allmählich, bei grösserer Konzentration sofort, einen zitronengelben körnigen Niederschlag von feinen kurzen Nadeln. In heissem Wasser wenig, in kaltem gar nicht löslich; die Fällung ist eine nahezu vollständige. Durch wässeriges Ammoniak wird dem Salz die Pikrinsäure leicht und vollständig entzogen, es geht die Hälfte des H. in Lösung und zurück bleibt H.-Silberoxyd (Bruhns [1])).

c) Mit Salzen. Eine Hypoxanthinlösung wird schon durch sehr wenig Quecksilberchlorid flockig gefällt. Mit Quecksilberchlorid hat Bruhns [2]) folgende Verbindungen erhalten. Chlorquecksilberhypoxanthin $C_5H_3N_4O$-Hg-Cl = $(C_5H_3N_4O)_2Hg, HgCl_2$ entstand auf Zusatz der äquivalenten Menge Quecksilberchlorid zur siedenden Lösung von H. in viel Wasser als geringer krystallinischer Niederschlag, der sich beim Erkalten vermehrte. Das Filtrat enthielt noch viel H. und schied mit Quecksilberchlorid kugelige Nadelaggregate derselben Verbindung von minder reinem Zustand ab. Eine wässerige H.-Lösung gab mit überschüssigem Quecksilberchlorid die krystallinische Verbindung $C_5H_3N_4O, HgCl, HgCl_2, + H_2O$ (oder ½ H_2O). Die Lösung dieser in möglichst wenig heisser verdünnter Salzsäure schied beim Erkalten weissliche kugelige Aggregate von blätterigen und nadelförmigen glänzenden Krystallen $C_5H_3N_4O, HgCl_2 + H_2O$ ab. — Das salpetersaure H.-Silber $C_5H_4N_4O, AgNO_3$ krystallisiert in Drusen deutlicher mikroskopischer, manchmal gebogener Prismen (Taf. I. Fig. 6, rechte Hälfte). Es löst sich sehr schwer in kalter Salpetersäure von 1,1 Dichte (in 4960 Teilen, nach Neubauer [3]) in 4470 Teilen), namentlich schwer bei Gegenwart von überschüssigem Silbernitrat (nach Neubauer in 42 250, nach Bruhns [4]) in 17 100 Teilen), und scheidet sich aus der heissen Lösung beim Erkalten wieder ab. Es ist lichtbeständig und unlöslich in Wasser. Lässt sich aus Salpetersäure umkrystallisieren. Besitzt aber nach Bruhns [5]) die angegebene Zusammensetzung nur dann, wenn es nicht vollständig ausfällt, und auch da nicht immer, sondern ist silberreicher (35,6 % statt 35,29). Durch Umkrystallisieren in Gegenwart von Silbernitrat steigt der Silbergehalt im Mittel bis zu 36,5 % und zwar um so höher, je mehr sich Silbernitrat in Lösung befindet; durch Umkrystallisieren dieser silberreichen Verbindung aus Salpetersäure sinkt der Silbergehalt wieder auf 35,6—35,8 %. Beim Auswaschen verliert es öfter etwas salpetersaures Silber. Durch Digerieren mit Ammoniak geht es unter Verlust der Hälfte H. in H.-Silberoxyd über.

d) 7-Diazobenzolsulfosäure-Hypoxanthin,

$$(C_5H_3N_3O)N . N = N - C_6H_4SO_3H,$$

hellgelbe Nadeln, Schmelzpunkt 270, löslich in Wasser, wenig löslich in Alkohol und Äther. Es gibt mit konzentriertem Baritwasser einen roten krystallinischen Niederschlag, ein schwarzrotes, gallertiges Silber- und ein bläulich-rotes Bleisalz (R. Burian [6])).

e) Bromhypoxanthin wurde von Krüger beschrieben [7]).

5. Zersetzungen. Beim Schmelzen mit Kaliumhydroxyd liefert es nicht die Hälfte seines Stickstoffes an Ammoniak und Blausäure (Kossel [8])). Mit HCl auf 180—200 erhitzt, geht es in Kohlensäure, Ammoniak und Glycocoll über (Krüger [9]).

Darstellung: Aus Fleischextrakt. Die Lösung des Extraktes wird mit Bleiessig gefällt, das Filtrat durch Schwefelwasserstoff vom

[1]) Bruhns, a. a. O. 555.
[2]) Bruhns, a. a. O. 570.
[3]) Neubauer, Zeitschr. f. analyt. Ch. 6. 35. 1867.
[4]) Bruhns, a. a. O. 549.
[5]) Bruhns, a. a. O. 547.
[6]) B. B. 37. 696. 1904.
[7]) Zeitschr. f. ph. Ch, 18. 445. 448. 1894.
[8]) Ebenda. 10. 258.
[9]) Zeitschr. f. ph. Ch. 16. 171. 1892.

Digitized by Google

überschüssigen Blei befreit und das Filtrat vom Bleisulfid eingeengt, mit Ammoniak versetzt und mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt. Der Niederschlag wird nach dem Waschen in heisser Salpetersäure gelöst, beim Erkalten fällt das Hypoxanthinsilbernitrat krystallisiert aus. Durch Zerlegen der Verbindung durch Schwefelwasserstoff wird die freie Base erhalten.

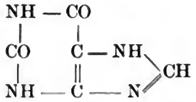
Nachweis: Das H. gibt mit Natronlauge und Chlorkalk keine grüne Färbung wie das Xanthin (Salkowski). Auch die übrigen Xanthinproben sind negativ. Dagegen gibt das H. die Kosselsche Adeninreaktion mit Zink und Salzsäure.

5. Episarkin.

Balke[1]) stellte aus Menschenharn in einer Ausbeute von 0,4 g aus 1600 Liter eine Purinbase dar, welche er Episarkin nannte. Eine ähnliche Substanz stellte Salomon[2]) aus leukämischem sowie aus Schweine- und Rinderharn dar. Nach den Untersuchungen von Krüger und Salomon handelt es sich um Epiguanin[3]).

6. Xanthin.

2-6-dioxypurin. $C_5H_4N_4O_2$ (+ H_2O.) Mol.-Gew. 152,04 . C = 39,46; H = 2,65 %; N = 36,85 %.



Vorkommen: Seit Marcet (1819)[4]) ist das Xanthin einige Male als einziger oder wesentlicher Bestandteil von Harnsteinen angetroffen worden; Strecker und Scherer haben es zuerst gleichzeitig sicher als Bestandteil des normalen Menschenharns erkannt. Bei Versuchen im Kleinen hat es Salomon[5]) manchmal vermisst.

Es ist auch von Pecile und von Salomon im Harn der Schweine, sowie von Salomon im Hundeharn nachgewiesen worden. Im Harn Leukämischer ist es in grösserer Menge vorhanden als in dem Gesunder; in relativ sehr reichlicher Menge (bis 28,5 mg in 100 cc) hat es

[1]) Journ. f. prakt. Ch. 47. 544, 563. 1893.
[2]) Virchows Arch. 95. 527. 1884. Zeitschr. f. ph. Ch. 18. 207. 1893.
[3]) Zeitschr. f. ph. Ch. 24. 380. 391. 1898.
[4]) An essay on the chemical history and medical treatment of calcul disorders, London 1817.
[5]) Strecker, Ann. d. Ch. u. Pharm. 102. 208. 1857; 108. 140 u. 151. 1858. — Scherer. daselbst 107. 314. 1858. — G. Salomon, Virchow's Archiv 125. 565.

Digitized by Google

Baginsky im Harn nephritischer Kinder aufgefunden, während bei gesunden Kindern in 100 cc Harn nur 3,8 mg nachgewiesen wurden. Gleichfalls in grösserer Menge fand es Pouchet[1]) bei Fieber und besonders bei Affektionen des Nervensystems.

Aus 10 000 Liter Menschenharn stellten Krüger und Salomon[2]) 13 g Xanthin dar. — Stadthagen bestimmte in der Tagesmenge Harn Gesunder bei gemischter Kost 0,032 und 0,025 g Xanthin, im Harn eines Leukämischen fand er für den Tag im Mittel aus 7 Bestimmungen 0,07 g (0,005—0,159). — Weißke fand Xanthin als Sediment im Harn eines leukämischen Schafbocks. — Bei einer Pachymeningitis cervicalis hypertrophica wies Pouchet 0,15 g Xanthin in der Tagesmenge Harn, bei Tabes dorsalis 0,08 g nach. — Im Harn eines Hundes bestimmte Stadthagen neben 57 g Harnstoff 0,014 g Xanthin; Baginsky[3]) fand im Harn eines mit 1 Kilo Pferdefleisch gefütterten Hundes nur Spuren Xanthin auf, mehr dagegen nach gleichzeitiger Verfütterung von Hypoxanthin. Aus dem Liter Harn eines mit Kleie gefütterten, anscheinend gichtkranken Schweines stellte Pecile 0,0034 g Xanthin dar. Xanthin kommt ferner im Guano[4]) und in den menschlichen Fäzes vor[5]).

Bildung: 1. Trichlorpurin und Natriumäthylat auf 100° erhitzt, liefert 2-6-Dioxy-8-chlorpurin, welches mit HJ in Xanthin übergeht (E. (Fischer[6])). 2. Cyanessigsäureäthylester und Harnstoff geht beim Stehen mit Alkali in 4-Amino-2-6 dioxypyrimidin über, welches mit salpetriger Säure ein Isonitrosoderivat gibt. Dieses liefert durch Schwefelammon reduziert Iminouramil (4-5-Diamino-2-6-dioxypyrimidin), aus welchem Ameisensäure eine Formilverbindung bildet. Erhitzt man das Natriumsalz dieses Stoffes auf 220°, so entsteht Xanthin bzw. Xanthinnatrium (Traube[7])). 3. Aus Harnsäure durch naszierende Ameisensäure (Chloroform und Alkali) auf dem Wasserbade (Sundvik[8])). 4. Aus Guanin durch salpetrige Säure, Fäulnis, Fermente und durch Kochen mit 25%iger Salzsäure auf dem Rückflusskühler (E. Fischer[9])).

Eigenschaften:

1. Das reine Xanthin krystallisiert nach Horbaczewski aus seiner heissen stark verdünnten Lösung (1 : 2000) in wenig Alkali nach dem Übersättigen mit

---

[1]) D. Pecile, Ann. d. Ch. 183. 141. 1876. — G. Salomon, Du Bois' Archiv 1884. 175; Virchow's Archiv 95. 527. — Salomon. Ztschr. f. physiol. Ch. 11. 413. 1887. — Baginsky, Du Bois' Archiv. 1884. 176; Ztschr. f. physiol. Ch. 8. 399. — A. Gabriel Pouchet, Contributions à la connaissance des matières extractives de l'urine. Thèse. Paris 1880, Parent. 28 und 36.

[2]) M. Krüger und G. Salomon, Zeitschr. f. physiol. Ch. 21. 169. 1895.

[3]) M. Stadthagen, Virchows Arch. 109. 414, 406. 418. — H. Weiske, Zeitschr. f. Biol. 11. 254. 1875. — Baginsky, Zeitschr. f. physiol. Ch. 8. 397.

[4]) Strecker, Ann. d. Ch. u. Pharm. 118. 157. 1861.

[5]) Krüger und Schittenhelm, Zeitschr. f. ph. Ch. 35. 161. 1902.

[6]) B. B. 30. 2232. 1897.

[7]) B. B. 33. 1317, 3043. 1900.

[8]) Zeitschr. f. ph. Ch. 23. 476. 1897; 26. 131. 1898/99.

[9]) B. B. 43. 805. 1910.

Digitized by Google

Essigsäure in makroskopischen farblosen glänzenden, aus dünnen grossen rhombischen Platten zusammengesetzten Drusen. Bei schneller Krystallisation scheiden sich, namentlich aus der Lösung nicht ganz reinen Xanthins dem unreinen Leucin ähnliche, radiär und konzentrisch gestreifte Kugeln ab, auch wetzsteinförmige, der Harnsäure zum Verwechseln ähnliche Krystalle.

Aus konzentrierten wässerigen Lösungen erhält man das Xanthin amorph als Pulver, in Flocken, Häuten und Krusten; manchmal trübt sich die kochend bereitete Lösung milchig und klärt sich selbst bei wochenlangem Stehen nicht vollständig. Das schwefelsaure Xanthin hinterlässt beim Behandeln mit Wasser Xanthin in der Form der ursprünglichen Krystalle (rhombische Tafeln). Beim Stehen reinsten Xanthins in Kalilauge setzen sich neben doppelt kohlensaurem Kali deutlich krystallinische Plättchen ab, die sich durch Wasser vom Kalisalz trennen lassen (Strecker[1]).

2. Das krystallisierte Xanthin enthält 1 Mol. Krystallwasser, welches es erst bei 125—130° abgibt. Das amorphe ist wasserfrei. Beim Erhitzen sublimiert das Xanthin ohne zu schmelzen unter Entwickelung von Blausäure zum Teil unzersetzt.

3. Es löst sich in ungefähr 13 000—14 000 Teilen kaltem und 1300—1400 Teilen heissem Wasser; in verdünntem Alkohol löst es sich schwerer, in einem Überschuss von Ammoniak oder Alkalihydrat viel leichter als in Wasser; auch Piperazinlösung löst es wie das Hypoxanthin nach Salkowski[2]) leicht. Verdünnte Säuren lösen es schwer und halten es schwer in Lösung. Nach Stadthagen lässt eine mit Salzsäure übersättigte Lösung bei mehrtägigem Stehen einen kreidigen Niederschlag von Xanthin ausfallen. Zu seiner Lösung bedarf es eines relativ grossen Überschusses von Säure; nach Wulff lösen 50 ccm Salzsäure von ungefähr 4 % 0,3 g Xanthin in der Kälte und 0,4 g in der Wärme durchaus nicht vollständig; selbst Lösungen mit nur 0,1—0,2 % Xanthin in 10 %ige Salzsäure geben binnen 1—3 Tagen einen Niederschlag. In konzentrierter Schwefelsäure löst es sich nach Liebig und Wöhler ohne beim Verdünnen mit Wasser sogleich einen Niederschlag zu geben; bei längerem Stehen der mit 4 Vol. Wasser verdünnten Lösung scheidet sich nach Horbaczewski jedoch auch hier eine geringe Menge Xanthin ab. — Beim Sättigen einer Xanthinlösung mit Salmiak fällt nach Hopkins[2]) Xanthin aus.

4. Verbindungen. a) Mit Basen. Eine warm gesättigte Lösung von Xanthin in 10 %igem Ammoniak liefert beim Erkalten äusserst feine, häufig zu Sternen verwachsene Nadeln von Xanthin-Ammoniak (Staedeler, Strecker). Löst man Xanthin in sehr wenig Natronlauge, so setzen sich nach Balke beim Stehen oft zu Drusen vereinigte Nädelchen von Xanthin-Natron $C_5H_3NaN_4O_2 + H_2O$ ab, welche das Wasser erst bei 190 bis 200° abgeben. Die Krystalle lösen sich mit alkalischer Reaktion ziemlich leicht in Wasser und lassen sich umkrystallisieren, wobei sie eine teilweise Zersetzung erleiden und sich das Xanthin in gelatinösen Flocken abscheidet. Die Verbindung löst sich im Gegensatz zum Heteroxanthin und Paraxanthin sofort in konzentrierter Lauge (Salomon), wie in verdünnter; aus der alkalischen Lösung kann die Verbindung durch Einleiten von Kohlensäure wieder gefällt werden (Balke[3])), wird

[1]) J. Horbaczewski, Zeitschr. f. physiol. Ch. **23**. 226. 1897. — Strecker, Ann. d. Ch. u. Pharm. **108**. 143. 1858.

[2]) Salkowski, Pflügers Arch. **56**. 349. 1894. — Stadthagen, Virchows Arch. **109**. 401. — C. Wulff, Zeitschr. f. physiol. Ch. **17**. 636. 1893. — Liebig und Wöhler, Ann. d. Ch. u. Pharm. **26**. 340. 1838. — J. Horbaczewski, Zeitschr. f. physiol. Ch. **18**. 344. — F. Gowland Hopkins, Journ. of Pathol. and Bacteriol. 1893. 452.

[3]) Staedeler, Ann. d. Ch. u. Pharm. **111**. 32 u. 37. — Strecker, Ann. d. Ch. u. Pharm. **118**. 167. — P. Balke, Journ. f. prakt. Ch. [2]. **47**. 559. 1893. — G. Salomon, Virchows Arch. **125**. 559.

Digitized by Google

aber die Behandlung mit Kohlensäure bis zur Bildung von Bicarbonat fortgesetzt, so scheidet sich freies Xanthin ab (Liebig und Wöhler[1])). Durch Salmiak wird aus der Lösung von Xanthin in Kaliumhydrat kein Xanthin gefällt, erst beim Verdunsten scheidet sich das Xanthin ab (Liebig und Wöhler). Gegen saure Salze, einschliesslich des Bicarbonats, verhält sich die alkalische Xanthinlösung wie die des Heteroxanthins und des Paraxanthins. — Saurer sowie schwach alkalischer Harn löst nach Bence Jones Xanthin, ohne dass es sich bei mässigem Verdunsten wieder abscheidet.

Eine Lösung von Xanthin in Ammoniak gibt mit einer ammoniakalischen Chlorcadmium- oder Chlorzinklösung einen weissen, in viel Ammoniak löslichen Niederschlag. Essigsaures Blei liefert mit der ammoniakalischen Lösung weisse Flocken, die sich beim Stehen öfters in glänzende Krystallschuppen verwandeln (Strecker). Löst man nach E. Fischer Xanthin in der zur Bildung des neutralen Salzes $C_5H_2N_4O_2Na_2$ nötigen Menge Natronlauge und versetzt heiss mit essigsaurem Blei, so entsteht ein weisser krystallinischer Niederschlag (von $C_5H_2N_4O_2Pb$).

b) Mit Säuren. Salzsaures Xanthin, $C_5H_4N_4O_2$, HCl, kugelige und warzenförmige Anhäufungen mikroskopischer Krystalle, die aus rauhen Oktaëdern mit abgestumpften Seitenkanten und spitzen rhombischen Plättchen bestehen; löslich in 153 Teilen (salzsäurehaltigem) Wasser (Strecker). Das Salz zersetzt sich selbst in salzsaurer Lösung leicht unter Abscheidung von Xanthin (3). — Das Platinsalz bildet gelbe, leicht lösliche Nadeln. — Das Nitrat besteht aus feinen zu gewimperten Kugeln zusammengesetzten Krystallen (Strecker); es ist in mässig verdünnter Salpetersäure so gut wie unlöslich. — Aus der heissen Lösung in nicht völlig konzentrierter Schwefelsäure krystallisiert das Sulfat $C_5H_4N_4O_2$, $H_2SO_4 + H_2O$ in perlmutterglänzenden, rhombischen Tafeln (Strecker); die Lösung in verdünnter Schwefelsäure hinterlässt beim Verdunsten mikroskopische Nadelbüschel. Das Salz zersetzt sich mit Wasser vollständig unter Hinterlassung des Xanthins in der Form der ursprünglichen Krystalle. — Das Pikrat ist löslich. — Eine mit Salpetersäure angesäuerte Xanthinlösung gibt nach Kerner[2]) mit Phosphormolybdänsäure in einer Verdünnung von 1 : 2000 sogleich einen hellorangegelben Niederschlag, in einer Verdünnung von 1 : 10 000 sogleich noch eine leichte Trübung, die sich beim Stehen als schwacher Niederschlag absetzt. Die Niederschläge lösen sich in warmer verdünnter Salpetersäure und krystallisieren als regelmässige mikroskopische, zimmtfarbene Würfel wieder aus.

c) Mit Salzen. Salpetersaures Xanthin-Silber, $C_5H_4N_4O_2$, $AgNO_3$, fällt als flockiger Niederschlag beim Versetzen einer Lösung von salpetersaurem Xanthin mit salpetersaurem Silber, scheidet sich auch aus einer Lösung von Xanthin-Silber in heisser verdünnter Salpetersäure aus, aber um so langsamer und unvollständiger, je stärker die Säure und je weniger Xanthin in Lösung war. Es besteht aus mikroskopischen Drusen zarter gekrümmter Nadeln. Beim Auswaschen verliert es alle Salpetersäure und einen Teil des Silbers (Strecker). — Der gallertige Niederschlag, welchen Xanthin mit ammoniakalischer Silberlösung gibt, ist in Ammoniak in geringem Grade löslich. Die Verbindung mit Silbernitrat ist schwerer löslich als die des Heteroxanthins; sie krystallisiert in stark lichtbrechenden kugeligen Aggregaten mikroskopischer Nadeln und bildet im Gegensatz zum 1-Methylxanthin ein schweres Krystallpulver (Krüger und Salomon). — Xanthin gibt auch mit salpetersaurem Quecksilber-Oxyd oder -Oxydul Niederschläge. Alle Quecksilber enthaltenden Xanthinniederschläge scheiden beim Stehen metallisches Quecksilber ab.

d) 7-Diazobenzolsulfosäure-Xanthin, $(C_5H_3N_3O_2)N . N = N . C_6H_4 SO_3H$, dunkeldottergelbe Nadeln, beim Erhitzen auf 265° unverändert, löslich in Wasser, wenig löslich in Alkohol, unlöslich in Äther, löslich in Alkalien. Durch

[1]) Ann. d. ch. Ph. **26**. 340. 1838.

[2]) Strecker, Ann. d. Ch. u. Pharm. **108**. 146. 1858. — Kerner, Pflügers Arch. **2**. 222.

Digitized by Google

Lösen von Xanthin und Diazobenzolsulfosäure in Alkali und Fällen mit Säure (R. Burian[1])).

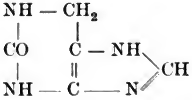
e) Xanthinblei gibt mit Jodmethyl Theobromin (E. Fischer).

5. Zersetzungen: Gegen heisse verdünnte Salpetersäure ist das Xanthin beständig (Wulff)[2]).

Wird es mit rauchender Salzsäure über 200° erhitzt, so zerfällt es nach Schmidt[3]) in Glykokoll, Ammoniak, Kohlensäure und Ameisensäure nach

$$C_5H_4N_4O_2 + 6H_2O = C_2H_5NO_2 + 3NH_3 + 2CO_2 + H.COOH.$$

Durch elektrolytische Reduktion entsteht Desoxyxanthin (2-Oxy-6-dihydropurin). Tafel[4]).



Darstellung: Durch Desaminierung des Guanins, indem man zur Lösung des Guanins in Schwefelsäure Natriumnitrit zufügt[5]).

Nachweis: Mit Chlorwasser oder Chlorat und Salzsäure eingedampft entsteht ein gelber Fleck, welcher bei höherer Temperatur rot wird und dann mit Ammoniak befeuchtet purpurrote Farbe annimmt (Murexid)[6]). Dieselbe Reaktion gibt die Harnsäure, ihre Methylderivate und die Methylderivate des Xanthins (Kaffein, Theobromin etc.), es ist die sogenannte Weidelsche Reaktion.

Fügt man einer Lösung von Xanthin in fixem Alkali Chlornatron oder Chlorkalk hinzu, so entwickelt sich etwas Stickstoff und die Lösung wird nacheinander blau, braun und zuletzt gelb (Liebig und Wöhler[7]). Bringt man in eine Mischung von Chlorkalk und Natron (in einem Uhrglas) eine Probe von Xanthin, so bildet sich um die Körnchen zuerst ein dunkelgrüner, bald ins Braune übergehender Hof, der schliesslich wieder verschwindet (Hoppe-Seyler). Die Grünfärbung tritt jedoch nur dann deutlich hervor, wenn das Xanthin schon ziemlich rein ist (Salkowski).

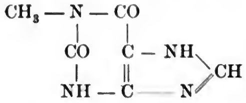
---

[1]) B. B. 37. 703. 1904.
[2]) C. Wulff, a. a. O. 639.
[3]) E. Schmidt. Ann. d. Ch. 217. 309. 1883.
[4]) B. B. 34. 1165. 1170. 1901.
[5]) Fischer, Ann. d. Ch. u. Pharm. 215. 309. 1882.
[6]) Kossel, Zeitschr. f. ph. Ch. 6. 431. 1882. — Fischer, B. B. 15. 453. 1882. Ann. d. Ch. u. Pharm. 213. 310. 1882.
[7]) Liebig und Wöhler, a. a. O.

Digitized by Google

7. 1-Methylxanthin.

1-Methyl-2-6-dioxypurin. $C_6H_6N_4O_2$. Mol.-Gew. 166,04. C = 43,37; H = 3,61; N = 38,73%.



Vorkommen: Im normalen Menschenharn[1]), im Harn des Kaninchens nach Fütterung von Kaffein und Paraxanthin[2]), bei der Autolyse der Nebennieren[3]).

Eigenschaften:

1. Scheidet sich aus Wasser in der Form mikroskopischer gleichförmiger Rosetten als farbloses nicht glänzendes Krystallpulver ab. Beim Eindampfen seiner salzsauren oder ammoniakalischen Lösung auf dem Wasserbade, manchmal auch beim Übersättigen seiner Lösung in fixem Alkali wird es als lockere irisierende Masse gewonnen; dieselbe besteht aus Geschieben rhomboidaler, äusserst dünner und schwach lichtbrechender Tafeln, an denen zumeist eine Ecke abgestumpft ist und die benachbarte sich einem rechten Winkel nähert; daneben finden sich vielfach kleinere weniger entwickelte, zu Büscheln angeordnete Tafeln und in grosser Menge spitze Krystalltrümmer.

2. Löst sich schwer in kaltem Wasser, jedoch beträchtlich leichter als das Xanthin, leicht in Ammoniak und in Natronlauge, sowie in verdünnter Salzsäure Salpetersäure und Schwefelsäure.

3. Verbindungen: a) Mit Basen. Beim Einengen seiner Lösung in 15%iger Natronlauge krystallisiert die Natriumverbindung in makroskopischen glasglänzenden Prismen mit endständiger Abdachung, auch in sechsseitigen Tafeln. Leichtlöslich in Wasser. In schwacher Ammonnitratlösung verwandeln sich die Krystalle fast unmittelbar in Büschel und Einzelexemplare gut ausgebildeter Nadeln. Es bildet kein schwerlösliches Barytsalz wie das 3-Methylxanthin. Mit ammoniakalischer Silberlösung entsteht eine schwerlösliche gallertige Silberoxydulverbindung. Kupfersulfat und Bisulfit erzeugen in der Kälte einen voluminösen, in der Wärme einen weissen flockigen Niederschlag; Kupfersulfat und Thiosulfat fällen nur in der Wärme.

b) Mit Säuren. Das Chlorid und das Nitrat krystallisieren erst nach starker, in der Kälte erfolgter Einengung. Das Chlorid bildet schöne glasglänzende rhombische Plättchen und Säulen, das Nitrat lange vierseitige Prismen mit zweiflächiger Abstumpfung, in verkürzter Form sechsseitige Plättchen. Diese Salze werden durch Wasser leicht zersetzt. Aus konzentrierten Lösungen scheidet sich das Chloroplatinat in sternförmig gruppierten Nadeln oder in Prismen, das Chloraurat in glänzenden rhombischen Säulen aus.

c) Mit Salzen. Quecksilberchlorid gibt nur eine in der Wärme verschwindende Trübung, auf nachfolgenden Zusatz von Natriumcarbonat einen weissen

[1]) Krüger und Salomon, Zeitschr. f. ph. Ch. **24**. 364. 1898; **26**. 358. 1898/99.

[2]) Krüger und Schmid, B. B. **32**. 2680. 1899; — Krüger, B. B. **32**. 3336. 1899.

[3]) Okerblom, Zeitschr f. ph. Ch. **28**. 60. 1899.

Digitized by Google

flockigen Niederschlag. — Ammoniakalische Silberlösung fällt gallertig. Aus der Lösung in Salpetersäure von 1,1 Dichte fällt die Verbindung der Base mit salpetersaurem Silber als voluminöser Niederschlag in Rosetten kleiner Nadeln, wodurch sie sich von der des Xanthins unterscheidet. Sie besitzt dieselbe Löslichkeit wie das Xanthin-Silbernitrat.

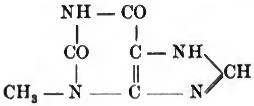
4. Beim Methylieren entsteht Theophyllin und Kaffein.

Nachweis: Die Weidelsche Probe ist positiv.

Beim Verdampfen der Substanz mit Salpetersäure von 1,4 Dichte zur Trockne hinterbleibt ein gelber Fleck, der mit Natronlauge orangefarben wird; in der Wärme ist diese Färbung lebhafter. Der nach dem Verdunsten der Substanz mit Kaliumchlorat und Salzsäure auf dem Wasserbade bleibende Rückstand färbt sich in einer Ammoniakatmosphäre stark purpurrot. Natronlauge färbt den Rückstand ebenso; setzt man nach dem Erkalten ein paar Tropfen Wasser zu, so tritt plötzlich eine prächtige blauviolette Färbung auf, die beim Erwärmen verschwindet. Besonders schön tritt die Färbung, von purpurrot bis intensiv violett, ein, wenn die Xanthinprobe in der von E. Fischer angegebenen Weise angestellt wird.

8. 3-Methylxanthin.

3-Methyl-2-6-dioxypurin. $C_6H_6N_4O_2$. Mol.-Gew. 166,04. C = 43,37 %; H = 3,61 %; N = 38,83 %.



Vorkommen: Im Harn nach Fütterung von Theobromin, Theophyllin und Kaffein.

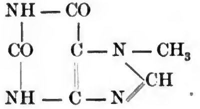
Eigenschaften: Farblose Prismen. Löslich in 350 Teilen kochenden Wassers. Schwer löslich in Alkohol, noch schwerer in Chloroform und Essigester. Bei 360° zersetzt es sich ohne zu schmelzen. Konzentrierte Natronlauge fällt das Natriumsalz in Nadeln. Löslich in Ammoniak, scheidet sich nach dem Wegkochen des Ammoniaks wieder aus [1]). Das Bariumsalz ist in heißem Wasser schwer löslich. Die Verbindungen mit Säuren sind wenig beständig. Das Nitrat krystallisiert beim Erkalten aus. Mit ammoniakalischer Silberlösung sowie mit Kupfersulfat und Bisulfit entstehen die entsprechenden unlöslichen Fällungen. Die Methylierung führt zu Theobromin und Kaffein. Die Murexidreaktion ist positiv.

[1]) Fischer und Ach, B. B. 31. 1980. 1898.

Digitized by Google

9. Heteroxanthin.

7-Methyl-2-6-oxypurin. $C_6H_6N_4O_2$. Mol.-Gew. 166,04. C = 43,37 %; H = 3,61 %; N = 38,73 %.



Vorkommen: Das Heteroxanthin ist von Salomon im Harn des Menschen entdeckt worden; derselbe Forscher fand es auch im Harn des Hundes bei Fütterung mit Fleisch und Gemüse, sowie nach Vergiftung mit Phosphor, sowie in reichlicher Menge im leukämischen Harn auf. Dem Körper zugeführtes Theobromin und Kaffein erscheinen nach Bondzynski und Gottlieb sowie Albanese[1]) im Harn als Heteroxanthin.

Salomon gewann aus 1000 Liter Menschenharn nur etwa 1 g davon, und aus 10 000 Litern Menschenharn stellten Krüger und Salomon 7,5 g dar; doch ist es nach Salomon noch in einigen Litern (0,85—6 Liter) nachweisbar (bis zu 10 mg in 5 Liter) wenn auch nicht immer. Aus 6,3 Liter leukämischem Harn gewann Salomon 15 mg. Für die Darstellung aus Hundeharn genügten 27,5 Liter (130 mg) (Salomon), in 60 Liter Rinderharn dagegen konnte Salomon Heteroxanthin nicht nachweisen. Aus 2 Liter Hundeharn stellte Albanese[2]) 11 mg, aus 15 Liter Hundeharn 80 mg eines Gemenges von Heteroxanthin und Xanthin dar. Bei den gastrischen Krisen der Tabiker soll es im Harn reichlich vorhanden sein[3]).

Von dem Monomethylxanthin, welches nach Bondzyński und Gottlieb sowie nach Albanese beim Hund nach Verfütterung von Theobromin oder Caffeïn im Harn auftritt, haben Bondzyński und Gottlieb[4]) nachgewiesen, dass es nicht bloss denselben Schmelzpunkt besitzt wie das von Salomon im Harn aufgefundene, sondern dass es sich, wie dieses, beim Erhitzen mit Salzsäure unter Bildung von Sarkosin zersetzt. Damit ist der Beweis von der Identität beider Monometylxanthine erbracht.

Synthese: E. Fischer[5]) erhielt durch Chlorieren des Theobromins mit Phosphoroxychlorid 7-Methyl-2-6-dichlorpurin, aus welchem durch Behandeln mit HCl bei 120—125° Heteroxanthin entstand.

[1]) Salomon, Du Bois' Archiv 1885. 370; Berichte d. chem. Gesellsch. **18.** 3407. 1885; Ztschr. f. physiol. Ch. **11.** 412 u. 415. — St. Bondzynski u. R. Gottlieb, Berichte d. chem. Gesellsch. **28.** 1113. 1895; Archiv f. exper. Pathol. **36.** 45. — M. Albanese, Archiv f. exper. Pathol. **35.** 449. 1895.

[2]) M. Krüger und G. Salomon, Zeitschr. f. physiol. Ch. **21.** 169. 1895. — Salomon, Virchows Arch. **125.** 564.— M. Albanese, a. a. O. **35.** 457.

[3]) Bashford, New York med. News 1894. Mai und November; Med. Rec. 1895. Juni.

[4]) St. Bondzyński und R. Gottlieb, Berichte d. chem. Gesellsch. **28.** 1113. 1895; Archiv. f. exper. Pathol. **36.** 45. — M. Albanese, Arch. f. exper. Pathol. **37.** 385. 1895. — Bondzyński und Gottlieb, Arch. f. exper. Pathol. **37.** 388. 1895.

[5]) B. B. **30.** 2403. 1897.

Digitized by Google

Eigenschaften:

1. Das reine Heteroxanthin krystallisiert aus heissem Wasser in glänzenden Nadeln (Albanese), in halbzentimeterlangen Nadeln oder in längeren oder kürzeren mikroskopischen, zu stachligen Kugeln und dichten Fächern angeordneten Säulen (Bondzyński und Gottlieb). Es kann auch bei schnellem Eindampfen noch etwas gefärbter Substanz (B. u. G.) amorph in Krusten und Knollen ausfallen, kann aber bei langsamer Ausscheidung dann mohngrosse Aggregate bilden und sich bei längerem (24 stündigem) Verweilen unter Wasser bisweilen in die beschriebenen Krystalle verwandeln (Salomon). Die Flocken, in welchen das H. aus der Natronlösung auf Zusatz von Essigsäure ausfällt, verwandeln sich bald in Krystalle (B. u. G.). Aus ammoniakalischer Lösung erhält man (das Ammonsalz?) blätterige Krusten (B.) oder gleichseitige sphärische Dreiecke (Balke [1]).

2. Schmilzt ungefähr bei 341—342° unter Sublimation und Zersetzung (B. u. G.); verflüchtigt sich auf dem Platinblech unter Entwickelung von Blausäure.

3. Löslich in 1592 ccm Wasser von 18° und in 109 ccm siedendem, in 7575 ccm absolutem Alkohol bei 17° und in 2250 ccm siedendem (B. u. G.), unlöslich in Äther; Chloroform löst die reine Basis nicht nachweisbar, die unreine in geringer Menge und bedeutend schwieriger als Theobromin (B.); geht aus der wässerigen Lösung leicht in Chloroform über (A.). Phenol nimmt bei 45° nur 2 % der Substanz auf (B.). — Leicht löslich in Ammoniak und in Alkalien, aus der Lösung schon durch Kohlensäure fällbar (S., A.).

4. Verbindungen: a) Mit Basen. Das Natriumsalz enthält $5H_2O$ und verliert das Krystallwasser vollständig erst bei 110—120°. Es löst sich, auf die freie Basis berechnet, in 2077 Teilen 3,3 %iger Natronlauge. Aus der heissen Lösung desselben scheidet Kohlensäure die Basis krystallinisch ab. Man erhält es nach Salomon [2]) durch Zusatz von Natronlauge zu der konzentrierten Lösung der Basis (eines Salzes derselben) in makroskopischen, wasserklaren, vollkommen luftbeständigen, nicht hygroskopischen Krystallen. Diese bilden viereckige schiefwinkelige, oft sehr dünne Tafeln. Bedeckt man einzelne Knollen oder Krystallbüschel des Chlorids mit wenig kalter Natronlauge, so überziehen sie sich sofort mit einem dichten schnell wachsenden Krystallrasen. Charakteristisch sind Zwillingskrystalle: dachförmig zugespitzte, von einem feinen Längsstrich durchzogene prismatische Gestalten. Abstumpfungen, Durchwachsungen, Büschelbildungen sind häufig. Nach Kossel bilden die Tafeln Winkel von 79 und 101°; sie sind doppelbrechend, ihre Auslöschrichtungen bilden mit den längeren Seiten des Vierecks Winkel von 14,6 und 75,4°. Die Krystalle trüben sich in mässiger Wärme unter Krystallwasserverlust, schmelzen aber erst über 300°. Sie lösen sich nicht in konzentrierter Lauge, aber mit alkalischer Reaktion etwas schwer in Wasser, leichter in der Wärme; sie lösen sich auch in Mineralsäure und in Ammoniak, nach dem Verdunsten des Ammoniaks bleibt die Verbindung unverändert zurück. Beim Neutralisieren ihrer Lösung mit Mineralsäuren oder organischen Säuren, auch mit Kohlensäure, scheidet sich das H. amorph oder in krystalloiden Knollen aus; saure Salze (Kalium- und Natriumpyrophosphat, zweifach saures Kaliumphosphat, Borax, saures weinsaures Ammon, saures Kalium- und Natriumcarbonat) fällen die Basis gleichfalls; in der Lösung oder Aufschwemmung eines dieser Salze trüben sich Krystalle des H.-Natrons an der Oberfläche und verwandeln sich in amorphe knollige Massen, welche die noch unveränderte Verbindung einhüllen. Frischer Harn zerlegt die Krystalle schnell, wie die Lösung eines sauren Salzes. Ammonsalze scheiden die reine Basis ab (S., B. u. G.). — Löst man nach Bondzyński und Gottlieb die Basis in heisser überschüssiger Natronlauge (2 At. Na auf 1 Mol.), so krystallisieren zentimeterlange rhombische Tafeln und Säulen aus.

Auch die Kaliumverbindung krystallisiert gut, besitzt einen hohen Schmelzpunkt, löst sich leichter als das Natriumsalz und zersetzt sich ebenso wie dieses (G.).

[1]) P. Balke, Journ. f. prakt. Ch. [2] **47**. 545. 1893.
[2]) G. Salomon, Virchows Arch. **125**. 556. 1891.

Digitized by Google

— Chlorbarium gibt mit der Natronverbindung einen gallertigen Niederschlag, aus dessen Lösung in heissem Wasser sich Kugeln und Rosetten der Verbindung $(C_6H_5N_4O_2)_2Ba$ (bei 100—105°) ausscheiden; man erhält die Krystalle auch direkt aus der Basis und Bariumhydrat (G. u. B.). —Während Bleizucker die Basis leicht löst, gibt Bleiessig mit ihr, namentlich bei Zusatz einer Spur Ammoniak, einen starken Niederschlag (A.). — Mit Kupferoxydul gibt sie eine schwer lösliche oder unlösliche Verbindung (Balke, B. u. G.). Kupfersulfat und Bisulfit gibt bei schwachem Erwärmen mit der Basis noch in einer Verdünnung von 1: 50 000 einen deutlichen flockigen Niederschlag, Kupfersulfat und Thiosulfat fällt nur in der Wärme. Der mit ammoniakalischer Silberlösung erhaltene Niederschlag ist in Ammoniak unlöslich. Nach dem Trocknen hat der Niederschlag die Zusammensetzung $C_6H_6N_4O_2 . Ag_2O$. Kupferacetat gibt beim Kochen einen schmutzig weissen Niederschlag.

b) Mit Säuren. Von den Verbindungen mit Säuren ist das Chlorid ausgezeichnet durch seine verhältnismässige Schwerlöslichkeit und vollkommene Krystallisationsfähigkeit. Die wasserhellen, meist in Büscheln angeordneten Krystalle erreichen eine Länge bis 1 cm. Sie werden in Wasser sehr bald weiss und undurchsichtig und zersetzen sich schliesslich unter Abscheidung von Heteroxanthin, schneller in der Wärme (S., A.). Ein analysenreines Salz zu erhalten, gelang B. u. G. nicht, es verliert schon im Wasserbad Salzsäure. Das Nitrat ist schwerer löslich als das Chlorid und krystallisiert aus 10 %iger Salpetersäure in rhombischen Plättchen, deren Längsseiten nach aussen gebogen sind.

c) Mit Salzen. Quecksilberchlorid schlägt nach Salomon[1]) das Heteroxanthin, im Gegensatz zum Paraxanthin, sofort nieder. Auch Mercurinitrat fällt es (A.). — Durch salpetersaures Silber wird die Basis sowohl aus salpetersaurer wie aus ammoniakalischer Lösung flockig gefällt; der Niederschlag löst sich beim Erwärmen schon in sehr verdünnter Salpetersäure und aus der nicht zu konzentrierten Lösung setzen sich sehr gut ausgebildete tafelförmige und prismatische Krystalle von salpetersaurem Heteroxanthin - Silber ab (S.). Die Verbindung mit Silbernitrat fällt aus Salpetersäure von 1,1 Dichte als schweres. aus rhombischen Plättchen und häufig zu zweien durchwachsenen Prismen bestehendes Pulver; sie ist leichter löslich als die entsprechende Xanthinverbindung.

5. Das Silbersalz liefert mit Methyljodid Kaffein.

6. Zersetzungen: Zersetzt sich nach Krüger und Salomon[2]) beim Erhitzen mit rauchender Salzsäure auf 180—200° zu Sarkosin, Ammoniak, Kohlensäure und Kohlenoxyd nach

$$C_6H_6N_4O_2 + 5H_2O = CH_3.HN.CH_2.COOH + 3NH_3 + 2CO_2 + CO.$$

Von Permanganat wird es zu Methylamin, Harnstoff und Ammoniak oxydiert[3]).

Nachweis:

Gibt die Xanthinprobe nicht, dagegen eine intensive Weidelsche Reaktion (S., B. u. G., A.), mit Salzsäure und einer Spur Kaliumchlorat besser als mit Chlor oder Brom; der rote Rückstand wird mit Kalilauge violett.

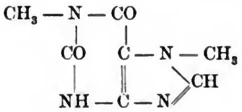
Darstellung: Aus Harn (s. S. 997, Aufteilung der Gesamtpurinfällung).

[1]) Salomon, Berichte d. chem Gesellsch. 18. 3408. 1885; Virchows Arch. **125**. 555.
[2]) Krüger und Salomon, Zeitschr. f. physiol. Ch. **21**. 169.
[3]) Jolles, B. B. **33**. 2120. 1900.

Digitized by Google

10. Paraxanthin.

1-7-Dimethyl-2-6-dioxypurin. $C_7H_8N_4O_2$. Mol.-Gew. 180,10. C = 46,67%; H = 4,44%; N = 31,11%.



Vorkommen: Das Paraxanthin hat Thudichum und selbständig vor diesem Salomon im Harn des Menschen entdeckt.

Thudichum nannte die dem Theobromin isomere Substanz Urotheobromin. Aus 10000 Liter Menschenharn stellten Krüger und Salomon 12,5 g Paraxanthin dar, doch gewann Salomon schon aus 20 Liter mässig konzentrierten Harns einige Dutzend makroskopische Krystalle und hat es nach späterer Mitteilung selbst in 0,84—5,37 Liter Harn häufig, aber nicht immer, noch aufgefunden; 5 Liter Harn lieferten bis 10 mg desselben. In etwa 6,3 Liter leukämischen Harns dagegen, aus welchem Salomon das Heteroxanthin darstellte, war keine Spur Paraxanthin nachweisbar. Ebenso wenig konnte es von Salomon[1]) in 60 Liter Kuhharn aufgefunden werden.

Synthese: Aus Dimethylharnsäure, aus Kaffein, aus 1-7-Dimethyl-6-oxy-2-chlorpurin durch Erhitzen mit HCl auf 125° (E. Fischer[2])).

Eigenschaften:

1. Farblose glasglänzende, meist sechsseitige Tafeln, die 3—4 mm breit und 2—4 cg schwer werden. Ganz konzentrierte Lösungen erstarren zu einem Brei langer farbloser durcheinander gewirrter Nadeln, welche trocken den Seidenglanz des Tyrosins besitzen.

2. Krystallisiert nach Salomon[3]) bei schneller Abscheidung aus heisser konzentrierter Lösung wasserfrei in Nadeln. Kann auch wasserhaltig krystallisieren. Die wasserhaltigen Krystalle verlieren das Wasser bei 110°. Es sublimiert bei 170—180°, schmilzt zwischen 250 und 270° anscheinend ohne Zersetzung und erstarrt beim Erkalten glasig. In noch höherer Temperatur entwickelt es nach Isonitril riechende Dämpfe, schwärzt sich und verbrennt.

3. In kaltem Wasser schwer löslich, viel leichter in heissem; die Lösungen reagieren neutral. Nach Salomon löst es sich in der Kälte weder in Alkohol, noch in Äther; nach Thudichum ist es in heissem Alkohol löslich.

4. Verbindungen: a) Mit Basen: Die schwer lösliche Natriumverbindung erhält man nach Salomon[4]) auf dieselbe Weise wie die des

---

[1]) J. L. W. Thudichum, Annals of chemical medicine 1. 163. 1879; Grundzüge der anat. u. klin. Chem. Berlin 1886. 245; Comptes rendus **106**. 1805. 1888. — Salomon, Du Bois' Arch. 1882. 426; Berichte d. chem. Gesellsch. **16**. 195. 1883; Zeitschr. f. klin. Med. **7**. Suppl.-Heft 63. 1884; Berichte 18. 3406. 1885. — M. Krüger und G. Salomon, Zeitschr. f. physiol. Ch. **21**. 169. 1895. — Salomon, Virchows Arch. **125**. 565. 1891.

[2]) B. B. **30**. 2408. 1897.

[3]) Salomon, Zeitschr. f. physiol. Ch. **15**. 319. 1891.

[4]) Salomon, Virchows Arch. **125**. 534. 1891.

Digitized by Google

Heteroxanthins in rechtwinkeligen, meist länglichen Tafeln und Prismen. Ein Paraxanthinkrystall wird in einem Tröpfchen Natronlauge oder Sodalösung sofort weiss und undurchsichtig und löst sich, während gleichzeitig das Natronsalz auskrystallisiert. Die Krystalle sind nach Kossel doppelbrechend, ihre Auslöschrichtungen liegen den Seiten des Rechtecks parallel. Das Paraxanthin-Natron besitzt dieselben allgemeinen Eigenschaften wie das Heteroxanthin-Natron, löst sich aber etwas leichter in Wasser. In Lösungen oder Aufschwemmungen saurer Salze schmilzt das Paraxanthin-Natron langsam ein, während zugleich das freie Paraxanthin in seinen typischen Formen auskrystallisiert. — Das Kaliumsalz verhält sich wie das Natriumsalz, nur ist es leichter löslich. Mit Kupferoxydul vereinigt sich das Paraxanthin zu einer schwerlöslichen oder unlöslichen Verbindung.

b) Mit Säuren. Das Chlorid des Paraxanthins krystallisiert auch aus sehr konzentrierten Lösungen nur schwer. — Das Platinchlorhydrat krystallisiert leicht in orangefarbenen Nadeln, welche beim Trocknen über Schwefelsäure schnell in ein gelbes Pulver zerfallen. Das Chloraurat krystallisiert mit $\frac{1}{2}H_2O$ und schmilzt bei 227 bis 228°. — Das Nitrat ist unbeständig. — Mit Pikrinsäure gibt salzsaures Paraxanthin einen reichlichen Niederschlag von dicht verfilzten gelben Flittern; das Salz zersetzt sich aber beim Auflösen in Wasser und beim Eindampfen.

c) Mit Salzen. Quecksilberchlorid oder Merkurinitrat fällen nach Salomon[1]) das Paraxanthin im Gegensatz zum Heteroxanthin erst nach längerer Zeit und erst bei Zusatz von überschüssigem Reagens. Sublimat ruft so ein Haufwerk farbloser Prismen hervor, die sich leicht in heissem Wasser lösen, sich bei mässigem Erwärmen unter Verlust des Krystallwassers trüben und bei starkem Erhitzen übelriechende ekelerregende Dämpfe entwickeln. — Silbernitrat fällt die Lösung des Paraxanthins in Salpetersäure oder Ammoniak flockig und gallertig, konzentrierte Lösung gibt mit salpetersaurem Silber eine klare Gallerte. Die Lösungen der Niederschläge in warmer Salpetersäure setzen beim Erkalten makroskopische weisse seidenglänzende Krystallbüschel von salpetersaurem Paraxanthin-Silber ab.

Darstellung: Aus Harn aus der Hypoxanthinfraktion von Krüger und Salomon.

Nachweis: Gibt die Weidelsche Probe aber nicht die Xanthinreaktion.

II. Quantitative Bestimmung der Purinbasen.

Behufs quantitativer Bestimmung der Purinbasen geht man zunächst genau so vor, wie zur Bestimmung des gesamten Purin-Stickstoffes (S. 940). Aus den durch Silber- oder Kupferoxydulfällung erhaltenen Niederschlägen scheidet man das Purinstoffgemenge am besten durch Zerlegen der Niederschläge in der Siedehitze mit Schwefelwasserstoff ab. Die Verwendung von Natriumsulfid ist mindestens überflüssig und kann einen Teil der Purinstoffe zerstören. Man bringt die Niederschläge am besten mit dem Filter in den Kolben zurück, setzt etwa die Hälfte der in Arbeit genommenen Harnmenge an Wasser zu, verteilt das Filter durch heftiges Schütteln, erhitzt mit etwas verdünnter Salzsäure zum Sieden und leitet bis zur völligen Zersetzung

[1]) Salomon, Zeitschr. f. klin. Med. Suppl.-Bd. 7. 73; Virchows Arch. 125. 555.

Digitized by Google

Schwefelwasserstoff ein. Hierbei wird das Kupferoxydul gut abgeschieden, das Silbersulfid dagegen bleibt leicht kolloid. Um das zu vermeiden, setzt man nach Folin und Shaffer[1]) 5—10 ccm Kupfersalzlösung vor dem Einleiten von Schwefelwasserstoff zu. Die Autoren empfehlen Kupfersulfat. Für den Fall, dass man aber die dann erhaltene Lösung zur Trockne verdampfen will, muss man die Schwefelsäure vermeiden und wird zweckmässig Kupferacetat verwenden. Nach der völligen Zersetzung kocht man den überschüssigen Schwefelwasserstoff weg (es wird so lange gekocht, bis ein in die Dämpfe gehaltenes, mit Silber- oder Bleilösung befeuchtetes Stück Filtrierpapier nicht mehr geschwärzt wird). Man filtriert heiss, zweckmässig auf der Nutsche und wäscht gründlich aus. Beim Einengen des mit Salzsäure angesäuerten Filtrats fällt die Harnsäure aus, wird abfiltriert und gewaschen. Nach Krüger kann man den Silberniederschlag auch mit Salzsäure zerlegen[2]), wobei die meiste Harnsäure mit dem Silberchlorid auf dem Filter zurückbleibt. Auch hier ist aber das Filtrat einzuengen und von der noch stets ausfallenden Harnsäure abzufiltrieren. Ist viel Xanthin und wenig Harnsäure — wie in manchen Tierharnen — zugegen, so kann hierbei auch ein Teil des Xanthins ausfallen. Man verfährt dann so, dass man zur Trockne verdampft, den Rückstand in konzentrierter Schwefelsäure löst und die Lösung in Wasser (Horbaczewski[3])) eingiesst. Vielleicht ist hierzu auch das Verfahren von Kossa[4]) geeignet, welches die Lösung in Schwefelsäure mit Alkohol behandelt. Die Harnsäure fällt aus, die Purinbasen bleiben in Lösung. Nur bei Verwendung von Alkohol ist aber die Trennung absolut, denn die Harnsäure ist, wenn auch sehr wenig, auch in verdünnter Schwefelsäure löslich.

Niemilowicz entfernt die Harnsäure aus dem nativen Harn durch Permanganatoxydation (s. S. 982), Kennaway durch Fällung mit Ammonsalz (s. S. 982).

Hat man auf die eine oder andere Weise eine Trennung der Harnsäure von den Basen vorgenommen, so wird die Mutterlauge der Harnsäure, in der neben den Basen also noch meist geringe Mengen von Harnsäure vorhanden sind, noch einmal mit ammoniakalischer Silberlösung oder Kupfersulfat und Bisulfit gefällt. Vor der neuerlichen Fällung mit Kupfersulfat und Bisulfit werden die Harnsäurespuren zusammen mit den gleichzeitig durch die Reagentien gefällten Stoffen (Rhodan, Kynurensäure, Eiweiss etc.)

[1]) Zeitschr. f. ph. Ch. **32**. 553. 1901.
[2]) Ebenda, **16**. 162; **21**. 175.
[3]) Ebenda, **18**. 343. 1893.
[4]) Ebenda, **47**. 1. 1906.

Digitized by Google

durch Oxydation des Gemenges mit Braunstein befreit. Den Silberniederschlag behandelt man genau nach Camerer-Arnstein (s. S. 987). Den Kupferoxydulniederschlag kann man nach dem gründlichen Waschen direkt nach Kjeldahl verarbeiten. Man erhält so den Purinbasen-N.

Statt in den Niederschlägen den Stickstoff zu bestimmen, kann man die vorhandene Basenmenge auch durch die Bestimmung des Kupfer- bzw. Silbergehaltes der Niederschläge messen. Die Kupferoxydulverbindungen sind dazu wenig geeignet, da sie zumeist mit Kupferoxydul verunreinigt sind, dagegen erhält man bei der Silberbestimmung gute Resultate. 1 Atom Silber entspricht $^1/_2$ Mol. Basen, also, wenn von den Aminopurinen abgesehen wird, ist ein Äquivalent Silber, Chlorsilber oder Rhodansalz zwei Atomen Basen-N äquivalent. Man erfährt also durch die Silberbestimmung des Niederschlages bloss den Purin-Kern-N. Der Amino-N der Aminopurine wird bei dieser Art der Berechnung nicht bestimmt und lässt sich auch nicht berechnen, da im Harn ein Gemisch von Amino- und desamidierten Purinen vorliegt, in dem die Aminopurine aber nur einen sehr kleinen Teil ausmachen. Da der Amino-N der Aminopurine als Purin-N deshalb nicht anzusehen ist, weil er im Stoffwechsel theoretisch vollständig abgespalten wird und die geringen Mengen Aminopurin des Harns nur einen der Umsetzung entgangenen Rest, ein Intermediärprodukt, darstellen, wird er bei der Ausrechnung der Bilanzen vom Purin-N der Zufuhr in Abzug gebracht und die in den Harn übergehenden, nicht desaminierten Reste müssten folgerichtig ebenso behandelt werden. Eine gesonderte Bestimmung der geringen Mengen Aminopurin im Harn und damit die Berücksichtigung des Amino-N in der Basenausscheidung ist derzeit unmöglich. Die Bestimmung des Silbers im Basenniederschlage und die Gleichsetzung eines Silberäquivalents zwei Purinbasen-N-äquivalenten ist also theoretisch richtiger als die direkte Bestimmung des Basen-N nach Kjeldahl, welche den etwa vorhandenen Amino-N mitbestimmt. In Praxi werden sich allerdings zumeist keine Unterschiede zwischen den beiden Werten ergeben dürfen, da die Menge der ausgeschiedenen Aminopurine eine nur sehr geringe ist.

In der entsprechenden Harnsäureverbindung entfällt auf 1 Mol. Harnsäure ein Atom Silber. Ein Äquivalent Silber, Chlorsilber oder Rhodan ist daher 4 Atomen Harnsäure-N äquivalent.

1 ccm einer $n/_{10}$-Lösung entspricht also 0,0056 Harnsäure-N und 0,0028 Purinbasen-Kern-N.

Schliesslich kann man die Menge der Purinbasen auch indirekt durch Bestimmung des Gesamtpurin-N, gesonderte Bestimmung der Harnsäure und Subtraktion beider Werte ermitteln.

Digitized by Google

In allen Fällen muss zur Bestimmung eiweissfreier oder enteiweisster Harn verwendet und alle Momente beobachtet werden, die bei der Bestimmung des Gesamt-Purin-N, als die Genauigkeit der Resultate beeinflussend, Erwähnung gefunden haben.

Die Menge der im Harn auftretenden Xanthinbasen ist sehr gering. Wenn man den auf die Xanthinbasen entfallenden Stickstoff als Xanthin rechnet, so enthält die Tagesmenge Harn nach Camerer bei gemischter Kost 87 mg Xanthin, bei animalischer Kost 44 mg, bei vegetabilischer 72 mg (Erbsen und Kraut) und 111 mg (Kohl und Äpfel). Setzt man den Stickstoff der in diesen Versuchen gleichzeitig ausgeschiedenen Harnsäure = 100, so beträgt der Stickstoff der Xanthinbasen bei den vier Ernährungsweisen 18,1, 7,6, 18,1 und 35,8. Salkowski bestimmte Harnsäure und Xanthinbasen gesondert im Silberniederschlag; nach ihm machen sie 8—10% von der Menge der Harnsäure aus. Nach Flatow und Reitzenstein[1]) kommen im Liter Harn 19,8 mg (12,9—34,7) und in der Tagesmenge 29,2 mg (15,6—45,1) Xanthinbasen vor.

Aus 10000 Litern Menschenharn stellten Krüger und Salomon[2]) dar: 10,12 Xanthin, 8,51 Hypoxanthin, 3,54 Adenin, 3,40 Epiguanin, 31,32 5-Methylxanthin, 22,35 Heteroxanthin und 15,32 Paraxanthin. Davon sind die methylierten Xanthine und möglicherweise auch das Epiguanin exogenen Ursprungs. Der endogene Purinbasen-N des Menschenharns schwankt pro 24 Stunden von 4—27 mg (Burian und Schur l. c.).

Direkte Verfahren.

1. Durch Fällen als Silbersalz.

a) Nach Salkowski.

A. Prinzip. Nach Abscheidung der Phosphorsäure durch Magnesiamischung werden die Harnsäure und die Xanthinbasen durch ammoniakalische Silberlösung gefällt, der Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zerlegt, die Xanthinbasen von der Harnsäure durch verdünnte Schwefelsäure getrennt, die in schwefelsaurer Lösung befindlichen Xanthinbasen wieder mit ammoniakalischer Silberlösung abgeschieden und in diesem Niederschlag das Silber bestimmt. Aus der gefundenen Menge Silber wird die Menge der Xanthinbasen berechnet.

[1]) Camerer, Ztschr. f. Biol. 28. 72. 1891. — Salkowski, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1894. 514. — R. Flatow u. A. Reitzenstein, Deutsche med. Wochenschr. 23. 1897.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 24. 380. 391. 1898.
[3]) Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. 4. 517. 1907.

Digitized by Google

In der Beschreibung hat Huppert einige ihm zweckmässig erscheinende, an sich unwesentliche Änderungen vorgenommen.

B. Erfordernisse.

1. Magnesiamischung nach Ludwig, S. 1052.
2. Eine 3 %ige Silberlösung, oder die ammoniakalische Silberlösung nach Ludwig a. a. O.
3. Auf das dreissigfache ihres Gewichtes verdünnte Schwefelsäure. Man erhält sie durch Zusatz von 10 ccm englischer Schwefelsäure zu 550 ccm Wasser.
4. Fünfzigstel-Normal-Rhodanammonlösung. Sie wird aut 0,02 n Silberlösung (mit 3,4 g Silbernitrat im Liter) gestellt. Der Kubikzentimeter derselben zeigt 1,52 mg Xanthin oder 0,56 mg Purinbasen-N an.

C. Ausführung. Eine grössere Menge (bei mittlerer Dichte 0,5 l) eiweissfreier Harn wird in einem Masszylinder auf 100 ccm mit 10 ccm Magnesiamischung versetzt und mit starkem Ammoniak auf ein rundes Volumen aufgefüllt (0,5 l auf 0,6 l). Nach einigen Minuten filtriert man durch ein trockenes Faltenfilter, misst vom Filtrat ein rundes Volumen (540 ccm mit 450 ccm Harn) ab und vermischt es auf 100 ccm mit 6 ccm der 3%igen wässerigen oder 10 ccm der ammoniakalischen Silberlösung. Der Niederschlag soll durchscheinend und gallertig sein; ist er weiss, so enthält er noch Chlorsilber und dieses ist dann durch Zusatz von Ammoniak noch in Lösung zu bringen. Bei Verwendung der wässerigen Silberlösung hat man überdem nachzusehen, ob die Mischung Silber enthält, wozu eine abgehobene klare Probe mit Salpetersäure zu übersättigen ist.

Nachdem der Niederschlag ungefähr eine Stunde gestanden hat, bringt man ihn auf ein glattes Filter und wäscht ihn silberfrei; ihn auch nahezu chlorfrei zu waschen, wie Salkowski vorschreibt, ist überflüssig. Man spritzt ihn dann vollständig vom Filter in einen Kolben, versetzt die Flüssigkeit, deren Volumen gleich dem des verwendeten Harns sein kann, mit einigen Tropfen Salzsäure und zerlegt ihn unter häufigem Schütteln vollständig mit Schwefelwasserstoff; der Zusatz der Salzsäure geschieht deshalb, weil sonst leicht Schwefelsilber mit in das Filtrat übergeht. Alsdann erhitzt man den Kolben auf dem Wasserbad, filtriert, wäscht den Niederschlag aus und verdampft das Filtrat anfangs über freiem Feuer, später im Wasserbad zur Trockne.

Statt mit Schwefelwasserstoff kann man den Niederschlag, wie bei der Bestimmung der Harnsäure nach Ludwig (in Wasserbadwärme) mit Schwefelnatrium zerlegen und Filtrat und Waschwasser nach dem schwachen Ansäuern mit Schwefelsäure zur Trockne verdampfen. Vergleichende Bestimmungen, welche Schrader [1]) nach beiden Methoden ausgeführt hat, sprechen für die Verwendbarkeit dieses Verfahrens.

[1]) Schrader, bei Salkowski, a. a. O. 301.

Digitized by Google

Der trockene Rückstand wird darauf mit 25—30 ccm der verdünnten Schwefelsäure bis zum beginnenden Sieden erhitzt, die Flüssigkeit 16—20 Stunden stehen gelassen, die Harnsäure, welche sich abgeschieden hat, mit Hilfe des Filtrats auf ein kleines Filter gebracht und dieses mit der verdünnten Schwefelsäure gewaschen, wozu ein 2—3 maliges Aufgiessen der Säure genügt. Filtrat und Waschflüssigkeit brauchen nicht mehr als 50 ccm zu betragen. Man übersättigt mit Ammoniak, fällt abermals mit Silberlösung und wäscht den Niederschlag auf einem aschefreien Filter nun chlor-, silber- und schwefelsäurefrei. Das Filter wird getrocknet, im Porzellantiegel verbrannt, das gebildete Silber in chlorfreier Salpetersäure gelöst, wie S. 1047 angegeben, und seine Menge durch Titrieren mit der 0,02-n-Rhodanlösung ermittelt.

Die Bestimmung ist nicht völlig genau, weil eine kleine Menge der Harnsäure von der Schwefelsäure in Lösung erhalten wird (Salkowski), die Verbindung der Xanthinbasen mit Silberoxyd in Ammoniak nicht ganz unlöslich ist, und weil sich nicht alles Silber in der Salpetersäure vollständig löst; Parallelanalysen ergeben aber bei sorgfältiger Arbeit bis auf Bruchteile von Milligrammen gleiche Resultate.

Um die weitere Untersuchung des Basenniederschlages bzw. Basengemenges mit der quantitativen Bestimmung der Basen zu verbinden, kann man nach Bass (unveröffentlicht) den Silberniederschlag der Basen nach sorgfältigem Waschen (er muss chlorsilberfrei sein) unter Zusatz von etwas Kupfersulfat zur Vermeidung der kolloiden Lösung des Silbersulfids (Folin und Shaffer) mit Schwefelwasserstoff zerlegen, die Sulfide quantitativ auf einem Filter sammeln, veraschen (zweckmässig feucht nach Neumann oder im Tiegel) und in der erhaltenen Lösung wie oben das Silber titrieren. Im Filtrat von den Sulfiden kann man dann eine weitere Untersuchung der Basen vornehmen.

b) Im Anschluss an die Harnsäurebestimmung nach Ludwig.

Man verfährt genau wie zur Harnsäurebestimmung nach Ludwig (S. 1051). Mutterlauge und Waschwässer der Harnsäure werden mit Ammoniak alkalisch gemacht. Von einem hierbei etwa ausfallenden Niederschlage (Tripelphosphat) ist abzufiltrieren und für die weitere Verarbeitung ein aliquoter Filtratsteil zu nehmen. Die alkalische Lösung wird nun wieder mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt, der Niederschlag ammoniakfrei gewaschen und nach Camerer-Arnstein (s. S. 941) weiterbehandelt. Man erhält so unmittelbar den gesamten Purinbasen-N.

Statt nach Ludwig vorzugehen, kann man von vornherein das Verfahren von Camerer-Arnstein zur Bestimmung des Gesamt-

Digitized by Google

purin-N befolgen. Der nach Camerer erhaltene Silberniederschlag wird gut gewaschen, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und zur Trockne verdampft. Hierbei flockt das meist nach der Zerlegung kolloid gelöste Silbersulfid aus. Digeriert man den Rückstand mit Wasser, so geht neben den Basen auch die Harnsäure vollständig als Magnesiumsalz in Lösung, digeriert man dagegen mit verdünnter Schwefelsäure oder Salzsäure, so bleibt sie zurück. Die Lösung wird dann mit Ammoniak wieder alkalisch gemacht, mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt und mit dem Niederschlage wie oben verfahren.

c) Nach Kennaway[1]).

Im Harn wird die Harnsäure nach dem Verfahren von Folin-Shaffer als Ammonurat niedergeschlagen und das Filtrat samt Waschwässern (siehe S. 1062) mit ammoniakalischer Silberlösung genau wie bei dem Verfahren von Camerer-Arnstein gefällt, der Niederschlag mit Wasser ammoniakfrei gewaschen, mit Magnesia gekocht und der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl unterworfen.

Die nach a, b, c erhaltenen Silberverbindungen der Basen kann man auch in Salpetersäure lösen, ihren Silbergehalt direkt durch Titration mit Rhodanlösung (n/50) bestimmen und nach S. 978 auf Basen-N umrechnen.

d) Nach Niemilowicz[2]).

Prinzip. Die im Harn vorhandene Harnsäure wird durch Permanganat oxydiert und dann die Purinbasen durch ammoniakalische Silberlösung niedergeschlagen, der Niederschlag gewaschen, in Salpetersäure gelöst und das Silber nach Volhard titriert, oder nach dem Verfahren von Denigès die Basen durch Zurücktitrieren des Silberüberschusses bestimmt.

Erfordernisse.
1. 16,66 % Phosphorsäure.
2. 0,5 % Indigocarminlösung, 1 ccm braucht zur Entfärbung 0,33 ccm. n/10 Permanganatlösung,
3. n/10 Kaliumpermanganatlösung.
4. Natriumsulfit.
5. Magnesiamischung nach Ludwig (S. 1052).
6. Ammoniakalische Silberlösung nach Ludwig (S. 1052), bzw. die Silbermagnesiamischung und die anderen Reagentien nach Denigès (S. 1048).
7. n/50 Rhodansalzlösung.
8. Käufliche Wasserstoffsuperoxydlösung (4%)

Ausführung. 100 ccm Harn werden mit der Phosphorsäure bis zur kongosauren Reaktion versetzt. Hierauf gibt man 1 ccm Indigocarminlösung zu und titriert mit der Permanganatlösung bis zum Verschwinden der Färbung des Indicators. Man verbraucht mehr als die zur Entfärbung von 1 ccm Indigocarminlösung erforderlichen 0,33 ccm. Man gibt wieder 1 ccm Indigocarminlösung zu und titriert wieder, jetzt wird weniger Permanganat, aber immer noch etwas mehr als 0,33 ccm gebraucht. Der Vorgang wird ein drittes Mal wiederholt, wobei dann ungefähr bloss die zur Entfärbung der Indigocarminlösung nötigen 0,33 ccm verbraucht werden. Die zu diesem Punkte verbrauchte Permanganatmenge in Kubik-

[1]) Journ. of ph. 38. 1. 1909.
[2]) Zeitschr. f. ph. Ch. 35. 264. 1902.

Digitized by Google

zentimetern bezeichnet Niemilowicz als Bruttooxydationszahl. Hierbei ist nun alle Harnsäure oxydiert. Jetzt gibt man 1 ccm frisch bereiteter 10% Natriumsulfitlösung oder eine geringe Menge Sulfit in Substanz, 1,5—2 ccm Ammoniak und genau 75 ccm Silbermagnesiamischung nach Denigès (S. 1048) zu, bringt auf ein rundes Volumen, eventuell unter Zusatz von 2 ccm der Wasserstoffsuperoxydlösung und verfährt weiter nach Denigès. 1 ccm Silberlösung = 1,9 mg Xanthin. Oder man versetzt eine grössere Harnmenge ohne Indicator mit der berechneten Menge Permanganatlösung, konzentriert, fällt die Basen mit den Ludwigschen Reagentien und titriert das Silber des in Salpetersäure gelösten Niederschlags. Zu diesem Ende hat man zunächst aus der Bruttooxydationszahl durch Abziehen der für den Indicator verbrauchten Permanganatmenge die Nettooxydationszahl zu ermitteln. Diese soll annähernd 8 betragen. Beträgt sie mehr, so hat man nach der Formel Netto: 7 = Verdünnung den Harn zu verdünnen. In dieser Verdünnung bestimmt man genau wie früher die Nettooxydationszahl (korrigiertes Netto). Diese Menge setzt man nun ohne Indicator zusammen mit der entsprechenden Menge Phosphorsäure, die man aus dem ersten Versuche berechnet, einer grösseren Harnmenge, 500 ccm, zu dann 1 ccm 10% Bisulfit und dampft auf dem Wasserbade bis zu einer dem spezifischen Gewicht des Harns entsprechenden Konzentration ein, und zwar bis auf 20 + den 3 Dezimalen des spezifischen Gewichts Kubikzentimeter. Die konzentrierte Lösung wird mit Ammoniak alkalisch gemacht und gemessen. Man filtriert von den ausgefallenen Erdphosphaten ab, versetzt $^{9}/_{10}$ der Lösung an Filtrat auf je 25 ccm mit 2 ccm Ammoniak, auf je 50 ccm mit 1 ccm Wasserstoffsuperoxydlösung und dann mit 5—10 ccm ammoniakalischer Silberlösung nach Ludwig und 5 ccm Magnesiamischung nach Ludwig. Der Niederschlag wird auf einem Filter gesammelt, chlor- und silberfrei gewaschen, in verdünnter Salpetersäure gelöst und mit der Rhodanlösung unter Zusatz von Eisenammonalaun als Indicator bis zur ersten Braunfärbung der Lösung titriert. 1 ccm der n/50 Rhodanlösung zeigt 1,69 mg Xanthin an oder unter der Voraussetzung, dass keine Aminopurine zugegen sind bzw. unter Vernachlässigung des Amino-N etwa anwesenden Guanins oder Adenins 0,56 mg Purinbasen-N an.

Nach Gittelmacher-Wilenko[1]) liefert die Methode mit der von Salkowski übereinstimmende Resultate.

2. Durch Fällen als Kupferoxydulsalz nach Krüger und Schmid[2]).

Man geht genau so vor wie zur Bestimmung des Gesamtpurin-N nach dem Kupferoxydulverfahren (S. 946). Ausser den dort aufgezählten Erfordernissen braucht man noch eine Aufschwemmung von Braunstein, die man sich in der Weise herstellt, dass man eine 0,5%ige Lösung von Kaliumpermanganat heiss mit soviel Alkohol versetzt, bis Entfärbung eintritt. Die Aufschwemmung ist vor dem Gebrauche zu schütteln.

Der wie oben S. 947 gewonnene Niederschlag der Kupferoxydulverbindungen der Purine wird nach dem gründlichen Waschen durch Schwefelwasserstoff zerlegt, der Schwefelwasserstoff weggekocht, vom Kupfersulfür abfiltriert und das letztere gründlich gewaschen. Filtrat und Waschwässer werden mit ein wenig Salzsäure in einer geradwandigen Krystallisierschale auf ein kleines Volumen eingedampft und die aus-

[1]) Zeitschr. f. ph. Ch. 36. 20. 1902.
[2]) Zeitschr. f. ph. Ch. 45. 1. 1905.

Digitized by Google

gefallene Harnsäure nach einigem Stehen abfiltriert und ausgewaschen. Die so erhaltene Basenlösung wird mit Lauge alkalisch und mit Essigsäure wieder sauer gemacht, auf 70—80° erwärmt, noch etwas Essigsäure hinzugesetzt und mit 10 ccm der Braunsteinsuspension kurze Zeit digeriert. Hierauf bringt man den Braunstein durch 50 ccm Bisulfitlauge in Lösung, erhitzt zum Sieden und trägt wie vorher 5—10 ccm 10%ige Kupfersulfatlösung ein, erhält noch 3 Minuten im Sieden, bringt den Niederschlag auf ein Filter, wäscht ihn gründlich aus und bestimmt in ihm den Stickstoff nach Kjeldahl.

Man kann auch so vorgehen, dass man nach dem Abtrennen der Harnsäure, nach b) mit ammoniakalischer Silberlösung und Magnesiamischung die Basen niederschlägt und weiter dem Gange von Camerer-Arnstein folgt.

3. Durch Fällen mit Phosphorwolframsäure.

Will man die Xanthinbasen, wie Stadthagen sowie Baginsky[1]) getan haben, mit Phosphorwolframsäure abscheiden, so hat man dazu das Verfahren von Hofmeister zu befolgen. Bei der Behandlung des Niederschlags mit Bariumhydrat bleibt zwar die Harnsäure ganz oder fast ganz ungelöst, man ist aber dadurch einer Trennung derselben von den Xanthinbasen nicht überhoben. Sie kann nach dem Verfahren von Salkowski oder dem von Horbaczewski oder Wulff vorgenommen werden (S. 993). Da die Verbindungen der Xanthinbasen mit Baryt schwer löslich sind, so muss die barythaltige Flüssigkeit verdünnt sein, um einem Verlust an Xanthinbasen vorzubeugen. Zuletzt sind sie durch Digestion mit ammoniakalischer Silberlösung in das Silbersalz überzuführen.

Der Harn wird nach Hofmeister[2]) abwechselnd mit soviel Salzsäure und Phosphorwolframsäure versetzt, bis kein Niederschlag mehr entsteht, der Niederschlag nach 24stündigem Stehen mit verdünnter Schwefelsäure (5 Volum konzentrierte auf 100 Volum) erst durch Dekantieren, dann auf dem Filter chlorfrei gewaschen, in der Wärme mit überschüssigem Bariumhydrat zerlegt, und das Filtrat durch Kohlensäure oder in der Wärme durch überschüssige Schwefelsäure vom Baryt befreit. Die abfiltrierte Flüssigkeit, welche keine oder nur noch wenig Harnsäure enthält, wird mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt und der Niederschlag gewaschen.

Der Harn muss eiweissfrei sein, darf aber Albumose enthalten. — Ob nach diesem Verfahren auch diejenigen Basen gewonnen werden, welche mit Baryt schwer lösliche Verbindungen liefern, ist nicht untersucht. — Die Kynurensäure, welche bei der Verarbeitung von Hundeharn mit in den Phosphorwolframsäure-Niederschlag eingeht, fällt beim Ansäuern des barythaltigen Filtrats mit Schwefelsäure zugleich mit dem Bariumsulfat aus. Die Phosphorwolframsäure schlägt auch das Kreatinin nieder; wenn man dasselbe zugleich gewinnen will, so scheidet man es nach dem Entfernen des Baryts durch Chlorzink (und essigsaures Natron) ab.

4. Durch Titrieren mit Silbersalz.

Bartley wendet sein zur Bestimmung der Harnsäure vorgeschlagenes Verfahren auch auf die Bestimmung der Xanthinbasen an, indem er nach dem Er-

[1]) Stadthagen, Virchows Arch. **109.** 406. 1887. — Baginsky, Zeitschr. f. physiol. Ch. 8. 396. 1883/84.
[2]) F. Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Ch. **5.** 67. 1881.

Digitized by Google

kalten des bereits zum Titrieren der Harnsäure benutzten Harns noch von seiner ammoniakalischen Silberlösung wieder bis zum Eintritt der Endreaktion zusetzt. Es ist keine Bürgschaft für die Richtigkeit des Resultats vorhanden.

Indirekte Verfahren.

1. Nach Haykraft[1]).

A. Prinzip. Der Harn wird, wie bei dem Verfahren von Ludwig (S. 981) mit Magnesiamischung und ammoniakalischer Silberlösung gefällt, der Niederschlag auf einem eigens hergerichteten Filter gewaschen, in Salpetersäure gelöst und das in Lösung gegangene Silber nach Volhard titriert. Ausserdem wird in einem gleichen Volumen Harn die Harnsäure gesondert bestimmt. Auf die Harnsäure entfällt für ein Mol. derselben von dem gefundenen Silber 1 Atom oder auf 1 g Harnsäure 0,643 g Silber. Das für die Harnsäure berechnete Silber wird von der Summe des Silbers abgezogen und aus dem Rest die Menge der Xanthinbasen berechnet, welche auf 1 Mol. 2 Atome Silber enthalten haben; 1 g Silber entspricht danach 0,704 g Xanthin.

Eiweisshaltiger Harn muss so vollständig vom Eiweiss befreit werden, wie bei der quantitativen Bestimmung von Harnsäure (S. 1054). Gegenwart von Zucker beeinträchtigt nach Herrmann die Bestimmung nicht. Eine vorläufige Fällung des Harns mit Magnesiamischung ist hier nicht am Platze, weil hier ein voluminöser Niederschlag erwünscht ist. Ein Uratsediment kann man abfiltrieren, muss aber für die gesonderte Bestimmung der Harnsäure denselben filtrierten Harn benutzen.

Das Verfahren ist von Herrmann[2]) in einigen Punkten abgeändert worden.

B. Erfordernisse.

1. Ammoniakalische Silberlösung,
2. Magnesiamischung, beide nach Ludwig.
3. Fünfzigstelnormal-Silberlösung (mit 3,4 g Silbernitrat im Liter).
4. Chlor- und salpetrigsäurefreie Salpetersäure von ungefähr 1,2 Dichte.
5. Fünfzigstelnormal-Rhodanlösung. Man löst ungefähr 2 g Rhodanammon zum Liter und stellt die Lösung auf die Fünfzigstelnormal-Silberlösung.
6. Das Filter. Zur Herrichtung des Filters wird ein rundes, siebförmig durchlochtes Platinblech von 2 cm Durchmesser in einen Trichter gelegt, darauf eine ganz dünne Schicht Glaswolle und auf diese mit mässig verdünnter Salzsäure ausgekochte und wieder säurefrei gewaschene Asbestwolle. Diese wird mit den Fingern so an Trichterwand und Platinblech angedrückt, dass sich ein muldenförmiger fester Filz bildet. Die Glaswolle verhindert das Verstopfen der Löcher des Filterblechs durch den Asbest beim Absaugen mit der Pumpe. Auf dem Filter bleibt Harnsäure zurück und es kann daher nur zu einer einzigen Bestimmung gebraucht werden.

---

[1]) J. B. Haycraft, Brit. med. Journ., Dec. 12. 1885. 1100; Zeitschr. f. analyt. Ch. **25**. 165. 1885.

[2]) A. Herrmann, Zeitschr. f. physiol. Ch. **12**. 496. 1888.

Digitized by Google

C. Ausführung nach Haycraft-Herrmann.

Man versetzt 50 ccm Harn mit je 5 ccm der Ludwigschen Silberlösung und Magnesiamischung, wie bei Ludwig (S. 1051), lässt den Niederschlag sich einigermassen absetzen und filtriert zuerst die Flüssigkeit durch das Filter (6) mit der Saugpumpe ab, dann verteilt man 4 g doppeltkohlensaures Natron in groben Stücken auf der Filterfläche und bringt den Niederschlag auf dasselbe. Der Zusatz von Bicarbonat hat wie die Erzeugung des Tripelphosphats den Zweck, den Niederschlag locker zu machen. Das Becherglas, in welchem der Niederschlag enthalten war, sowie dieser selbst werden mit schwach ammoniakalischem Wasser vollständig chlor- und silberfrei gewaschen, anfangs mit der Saugpumpe, bis der Niederschlag rissig wird, später ohne dieselbe, weil sonst Niederschlag in das Filtrat übergeht. Es kann die Pumpe dann nur zum Absaugen der letzten Tropfen Flüssigkeit aus dem Filter benutzt werden. Auf Silber prüft man das Filtrat mit Salzsäure, setzt aber nur wenig mehr zu, als zum Ansäuern des Filtrates erforderlich ist, weil eine schwache Chlorsilbertrübung in überschüssiger Salzsäure leicht wieder verschwindet; auf Chlor wird mit einer klaren Lösung von Silbernitrat in schwacher Salpetersäure geprüft.

Der rein gewaschene Niederschlag wird dann auf dem Filter durch Übergiessen mit der chlor- und salpetrigsäurefreien Salpetersäure (4) gelöst. Nachdem der Niederschlag in Lösung gegangen ist, wäscht man das Filter mittels der Saugpumpe erst mit stark verdünnter, gleichfalls reiner Salpetersäure und dann mit Wasser bis zum Verschwinden der sauren Reaktion. Die Zeit vom Filtrieren des Niederschlags bis zum Lösen desselben braucht $^1/_2$ Stunde nicht zu überschreiten. Die Lösung des Niederschlages titriert man dann mit der Rhodanlösung (5) wie bei der Titerstellung auf dieselbe Endreaktion. Zwei solcher Bestimmungen mit demselben Harn können nach Herrmann bei richtiger Ausführung des Verfahrens identische Resultate geben.

D. Ausführung nach Denigès.

Die Ausführung der Vorschrift von Haycraft erfordert grosse Geschicklichkeit und Genauigkeit und ist wegen der Herstellung des Filters umständlich. Czapek[1]) hat daher zuerst ein Verfahren angegeben, das von der Harnsäure und den Xanthinbasen gebundene Silber durch Zurücktitrieren des Silbers zu bestimmen, welches nach Zusatz einer bekannten Menge in Ammoniak gelösten Silbers zu Harn in Lösung bleibt. Zum Titrieren des Silbers in ammoniakalischer Lösung diente Kalium- oder Natrium-Sulfhydrat. Dieses ändert aber beim Auf-

[1]) Czapek, Zeitschr. f. physiol. Ch. 12. 502. 1888.

Digitized by Google

bewahren seinen Titer fortwährend und es muss bei jeder einzelnen Analyse sein Titer neu gestellt werden. Dadurch ist das Verfahren umständlich. An Stelle des Sulfhydrats hat Denigès Cyankalium gesetzt und dadurch das Verfahren praktischer gestaltet.

Das Prinzip der Methode und die Erfordernisse sind S. 1047 angegeben und das Verfahren für die Titrierung von reiner Harnsäure beschrieben. Um die Bedingungen, unter denen die Titrierung des Harns vor sich gehen soll, denen der Titerstellung der Cyankaliumlösung möglichst gleich zu machen, misst man zu 100 ccm Harn 75 ccm der a. a. O. vorgeschriebenen Silber-Magnesiamischung, schüttelt um, filtriert und verwendet vom Filtrat $^4/_5$ des ursprünglichen Volumens, d. i. 140 ccm, zur Titrierung. Es werden 20 ccm der Cyankaliumlösung zugemessen und so lange von der $^1/_{50}$-n-Silberlösung zufliessen gelassen, bis bleibende Trübung eintritt. Die verbrauchte Menge Silber gibt an, wie viel Silber in dem Silberniederschlag des Harns enthalten ist. Da nur $^4/_5$ des ursprünglichen Volumens titriert worden sind, so hat man die Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter mit $^5/_4$ zu multiplizieren, um zu erfahren, wie viel von der Silberlösung für 100 ccm Harn nötig gewesen wäre.

Daneben ist in 100 ccm desselben Harns die Harnsäure für sich zu bestimmen. Für 0,1 g dieser Harnsäure zieht man 29,76 ccm von der verbrauchten Silberlösung ab; von dem Rest der Silberlösung entspricht der Kubikzentimeter 1,52 mg Xanthin.

Die Richtigkeit des Resultats hängt davon ab, mit welcher Genauigkeit die Summe von Harnsäure und Xanthinbasen und die Harnsäure für sich bestimmt werden können. Denigès hat 10 normale und pathologische Harne nach Haycraft und nach seinem Verfahren mit sehr guter Übereinstimmung der Resultate analysiert. Eiweiss stört nicht, nur die jodidhaltigen Harne sind vorher vom Jod in der Weise zu befreien, dass 100 ccm Harn in einem Masszylinder mit 1 ccm Salpetersäure und 20 ccm $^1/_{10}$n-Silberlösung versetzt werden; diese Silbermenge bindet das Jod von 0,332 g Jodkalium, genügt also für alle Fälle. Man fügt dann noch 5 ccm gesättigte Kochsalzlösung zu, um etwa überschüssiges Silber zu entfernen, füllt auf 200 ccm auf und filtriert. Das Filtrat enthält ein halbes Volumen Harn.

2. Nach Camerer.

A. Prinzip. Camerer[1]) fällt den Harn mit Magnesiamischung aus, das Filtrat mit ammoniakalischer Silberlösung und bestimmt in dem Silberniederschlag den Stickstoff. Von dem gesamten Stickstoff wird der Stickstoff der gesondert bestimmten Harnsäure ($= ^1/_3$ des Gewichts der Harnsäure) abgezogen, der Rest ist der Basenstickstoff.

Erfordernisse und Ausführung s. S. 941 bei der Bestimmung des Gesamt-Purin-N nach Camerer-Arnstein.

[1]) W. Camerer, Zeitschr. f. Biol. **26**. 104. 1890; **28**. 72. 1891.

Digitized by Google

III. Darstellung, Trennung und Identifizierung der Purinbasen.

Wenn man von den nur exogenen Methylxanthinen absieht, so ist die Verteilung der Purinbasen im Menschenharn derart, dass am meisten Xanthin, weniger Hypoxanthin und am wenigsten Adenin ausgeschieden wird. Guanin scheint kaum vorzukommen. Wie sich die Verhältnisse bei purinfreier Ernährung gestalten, ist unbekannt, da eine der Krüger-Salomonschen analoge umfassende Untersuchung bei purinfreier Kost nicht vorliegt. Von den rein exogenen, weil körperfremden, Methylxanthinen wird wieder die höchste Abbaustufe in grösster Menge ausgeschieden und die übrigen in der ihrem Abbau entsprechenden Reihenfolge. Am meisten 1-Methylxanthin, dann 7-Methylxanthin und am geringsten 3-7-Methylxanthin.

Beabsichtigt man einigermassen grössere Mengen der Basen darzustellen, so lohnt sich die Arbeit nur mit grossen Quantitäten Harn (einige 100 Liter).

Die vorläufige Trennung der Basen voneinander kann entweder in ihren Verbindungen mit Silbernitrat geschehen, wenn man nach der Abtrennung der Harnsäure von einer neuerlich erzeugten Fällung mit ammoniakalischer Silberlösung ausgeht, oder in den nach der Entfernung der Harnsäure verbleibenden salzsauren Mutterlaugen vorgenommen werden.

Zur Fällung der Basen verwendet man eines der Verfahren, welche oben (S. 940) zur quantitativen Bestimmung des Gesamt-Purin-N oder der Basen beschrieben wurden. 1. Mit ammoniakalischer Silberlösung, 2. mit Kupfersulfat und Bisulfit, 3. mit Phosphorwolframsäure. Die Fällung mit Phosphorwolframsäure ist aber zur Darstellung der Basen unmittelbar nicht geeignet, weil ausser den Basen noch mehrere andere Stoffe durch dieses Reagens aus dem Harn gefällt werden. Die durch Barythydrat in Freiheit gesetzten Basen müssen deshalb noch einmal und zwar am besten durch ammoniakalische Silberlösung niedergeschlagen werden.

Die Abtrennung der Harnsäure erfolgt nach dem Zerlegen der Niederschläge mit Schwefelwasserstoff oder Natriumsulfid durch Einengen mit Salzsäure und Filtrieren oder durch Zerlegen der Silberniederschläge mit verdünnter Salzsäure[1]), bei letzterem Verfahren bleibt der grösste Teil der Harnsäure mit dem Chlorsilber auf dem Filter. Da die Harnsäure in verdünnter Salzsäure nicht ganz unlöslich ist, so ist die Basenfraktion immer mit etwas Harnsäure verunreinigt. Es sei denn,

[1]) Krüger, Zeitschr. f. physiol. Chem. **16**. 162. **21**. 175.

Digitized by Google

dass man nach Kossa (S. 1051) vorgeht oder die Harnsäure durch Braunstein oder Salpetersäure oxydiert.

1. Trennung der Basen in Verbindung mit salpetersaurem Silber.

Nach dem Abtrennen der Harnsäure werden die Mutterlaugen derselben mit Ammoniak wieder alkalisch gemacht und mit ammoniakalischer Silberlösung neuerlich gefällt. Der Niederschlag wird gut gewaschen und zunächst nach Neubauer in möglichst wenig heisser Salpetersäure von 1,1 Dichte gelöst. Man bringt den Niederschlag in einen Glaskolben, schüttet etwas Harnstoff hinzu, dann die Salpetersäure, erhitzt auf dem Sand- oder Wasserbade, bis die Flüssigkeit gelb geworden und möglichst vollständige Lösung des Niederschlages eingetreten ist und filtriert heiss (durch Glaswolle oder Asbest). Aus dem Filtrat scheiden sich innerhalb der ersten (zwölf) Stunden nach dem Filtrieren Guanin (dieses sehr bald), Hypoxanthin, Adenin und Epiguanin mit salpetersaurem Silber verbunden in mikroskopischen Krystalldrusen aus (Hypoxanthinfraktion), während Xanthin und seine Homologen (Xanthinfraktion) zunächst in Lösung bleiben. Bei tagelangem Stehen kann auch ein grösserer oder geringerer Teil dieser als Verbindungen mit Silbernitrat ausfallen.

Damit man mit dem gallertigen Silberoxyd-Niederschlag nicht unnütz viel Wasser mit der Salpetersäure zusammenbringt, lässt man das Filter mit dem Niederschlag so lang auf Fliesspapier liegen, bis man den noch feuchten Niederschlag mit Leichtigkeit abnehmen kann; das Filter behandelt man für sich mit der Salpetersäure. — Beim Kochen mit der Salpetersäure wird der letzte Rest Harnsäure zerstört. — Harnstoff fügt man nach Kossel dem Silberniederschlag, der in der Salpetersäure gelöst werden soll, hinzu, um die sich bildende salpetrige Säure zu zersetzen, denn diese führt das Guanin in Xanthin, das Adenin in Hypoxanthin über; aber auch bei Zusatz grosser Mengen Harnstoff lässt sich die Zersetzung wengistens des Adenins nicht ganz verhüten (Bruhns, Krüger[1]). Es sollte daher erst dann die Lösung des Silberniederschlags in Salpetersäure vorgenommen werden, wenn er von Farbstoff und anderen oxydablen Substanzen möglichst befreit ist, was durch wiederholtes Lösen und Fällen anzustreben ist. Etwa noch vorhandenes Chlorsilber bleibt beim Kochen mit der Salpetersäure als schweres Pulver zurück. Da sich das Guaninsilber nur sehr schwer in der verdünnten Salpetersäure löst, so kann auch von ihm ein Teil zurückbleiben. Statt dass man sogleich alles in einem Überschuss von Salpetersäure zu lösen versucht, tut man besser, die mit einer kleinen Menge Säure erhaltene Lösung zunächst abzufiltrieren und eine Probe des Rückstands auf seine Löslichkeit in Ammoniak zu prüfen. Tritt keine vollständige Lösung ein, besteht der Rückstand also nicht bloss aus Chlorsilber, so kocht man ihn mit einer neuen Menge der verdünnten Salpetersäure aus, oder zieht die Basis durch Digestion aus dem gewaschenen Rückstand mit verdünnter Salzsäure aus. — Das Filtrieren der heissen Lösung in Salpetersäure ist überflüssig; wenn man sich überzeugt hat, dass beim Kochen

[1]) Bruhns, Zeitschr. f. physiol. Ch. 14. 534. — Krüger, daselbst 21. 282.

Digitized by Google

alles, was sich überhaupt in der Salpetersäure lösen kann, gelöst hat, lässt man die Flüssigkeit die vorgeschriebene Zeit stehen. Dieses Verfahren hat den Vorteil, dass so schwer lösliche Verbindungen, wie die des Guanins, dem Nachweis weniger leicht entgehen.

Eine scharfe Trennung der Xanthinbasen in die genannten zwei Gruppen ist auf diese Weise nicht zu erreichen. Es hängt wesentlich von der zum Lösen verwendeten Salpetersäure ab, ob im Filtrat Xanthin und seine Homologen (als Verbindungen mit Silbernitrat) mit auskrystallisieren und ob wenigstens Hypoxanthin teilweise in Lösung bleibt. Durch (einmaliges) Umkrystallisieren der Hypoxanthinfraktion aus Salpetersäure von 1,1 Dichte kann man den in ihr eingeschlossenen Anteil der Xanthinfraktion in Lösung bringen.

Man filtriert den beim Erkalten entstandenen Niederschlag ab und wäscht ihn zunächst mit der verdünnten Salpetersäure etwas nach. Beim Waschen des Niederschlages mit Wasser ist eine Zerlegung in seine Bestandteile und Zurückbleiben von Xanthin im Niederschlag möglich. Filtrat (samt Waschflüssigkeit) sowie Niederschlag werden gesondert weiter verarbeitet.

a) Verarbeitung der Lösung (Xanthinfraktion).

α) Das Filtrat wird nach Salomon[1]) mit Ammoniak übersättigt, der Niederschlag durch Dekantieren oder auf dem Filter gewaschen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Man filtriert heiss, dampft auf ein kleines Volumen ein und lässt nach Zusatz von etwas Ammoniak 12 bis 24 Stunden stehen, wobei die letzten Spuren von Phosphaten, von Harnsäure und von Oxalat ausfallen. Das Filtrat wird nun weiter in einem Becherglas bis zum Eintritt einer diffusen Trübung eingeengt. Beim Erkalten scheidet sich das meiste Xanthin und Heteroxanthin ab, während das Paraxanthin mit dem übrigen Xanthin (und Heteroxanthin) in Lösung bleibt. Man filtriert und konzentriert weiter, so lange noch ein amorpher Niederschlag (von Xanthin) erfolgt, der entfernt werden muss. Zuletzt krystallisiert das Paraxanthin in den beschriebenen Formen aus. Die Krystalle werden abgepresst und aus heissem Wasser umkrystallisiert.

Es geschieht sehr oft, dass das Schwefelsilber mit durch das Filter geht; in solchem Falle verdampft man bis zur Trockne, zieht den Rückstand mit heissem Wasser aus und wiederholt das Verfahren so oft, bis die Lösung nicht mehr von Schwefelsilber getrübt ist. Wenn die Lösung sehr unrein ist, so kann die Krystallisation beim Eindampfen ausbleiben. In solchem Falle lässt man die Lösung bei Zimmertemperatur eintrocknen und erhält so manchmal sehr schöne Krystalle. Geschieht dies nicht, so löst man in viel Wasser, fällt mit stark verdünnter ammoniakalischer Silberlösung, wäscht den Niederschlag gut aus und verfährt wie vorher.

Dem Paraxanthin kann noch Heteroxanthin beigemengt sein. Um zu erfahren, ob dies der Fall ist, und um beide Basen zu trennen, löst

[1]) Salomon, Berichte d. chem. Gesellsch. **16.** 195; **18.** 3407; Zeitschr. f. klin. Med. a. a. O.

Digitized by Google

man die Krystalle unter Zusatz von etwas Natronlauge in wenig heissem Wasser und lässt erkalten. Die sich dabei absetzenden Krystalle werden abgepresst, in Wasser gelöst und die Lösung mit Salzsäure neutralisiert; das Paraxanthin scheidet sich dabei in der ursprünglichen Krystallform, das Heteroxanthin amorph ab. Man löst den gewaschenen Niederschlag in wenig Salzsäure, wonach in etwa 48 Stunden das salzsaure Heteroxanthin in grossen farblosen Büscheln anschiesst, während das sehr leicht lösliche salzsaure Paraxanthin in der Mutterlauge bleibt. Diese wird mit Ammoniak eingedampft, der Rückstand ausgewaschen, in Ammoniak gelöst und die Lösung langsam eingeengt.

Um das Heteroxanthin, welches mit dem Xanthin beim Eindampfen zuerst ausgefallen ist, von diesem zu trennen, löst man alles in ziemlich viel ammoniakhaltigem Wasser und dampft, wenn nötig öfter, sehr mässig ein, bis sich nach 24 stündigem Stehen in der Kälte blättrige Krusten am Boden des Becherglases vorfinden. Sie kennzeichnen sich als Heteroxanthin dadurch, dass sie mit Natronlauge eine krystallinische Verbindung geben. Ist Heteroxanthin vorhanden, so wird die abgegossene Mutterlauge immer weiter eingedampft, bis die ausgeschiedenen Massen mit Natronlauge kaum noch einen Niederschlag geben. Man löst dann die gesamte Substanz in wenig heisser Natronlauge, presst nach 24 Stunden die ausgefallenen grossen Krystallbüschel ab, löst sie in Wasser und neutralisiert die Lösung mit Salzsäure, wobei das Heteroxanthin als amorphes Pulver ausfällt. Man wäscht den Niederschlag aus, löst ihn in Salzsäure und verfährt, wie oben für die Trennung des Heteroxanthins vom Paraxanthin angegeben ist.

Selbstverständlich braucht man die ursprüngliche ammoniakalische Lösung nicht bis zur gemeinsamen Ausscheidung des Xanthins und Heteroxanthins einzudampfen, sondern man kann auch sogleich zuerst das Heteroxanthin für sich auskrystallisieren lassen.

Als Balke[1]) das Bleisalz des rohen, aber anscheinend von seinen Homologen befreiten Xanthins mit Schwefelwasserstoff zersetzt hatte, schied sich aus dem stark verdünnten ammonikalischen Filtrat beim Stehen Heteroxanthin in gleichseitigen sphärischen Dreiecken ab.

Das meist stark gefärbte Xanthin lässt sich nach Balke von dem hartnäckig haftenden Farbstoff leicht befreien, wenn man es in möglichst wenig Natronlauge löst, nur so lange Kohlensäure einleitet, dass sich die Nädelchen des Xanthin-Natrons abscheiden, und nun die ziemlich leicht lösliche Verbindung einige Male aus heissem Wasser umkrystallisiert. Essigsäure scheidet das Xanthin zuletzt in schneeweissen Flocken ab. Das Xanthin selbst erhält man aus diesem Präparat nach dem Verfahren von Horbaczewski[2]) krystallisiert.

---

[1]) Balke, Journ. f. prakt. Ch. [2] 47. 545.

[2]) Balke, a. a. O. 558. — J. Horbaczewski, Zeitschr. f. physiol. Ch. 23. 226. 1897.

Digitized by Google

Dazu löst man das Xanthin in wenig Lauge, filtriert wenn nötig, verdünnt die Lösung mit 60° warmem Wasser so, dass 1 g Xanthin in 2 Liter gelöst ist, und übersättigt mit Essigsäure. Trübt sich dabei die Lösung sogleich, so muss sie schnell durch ein Faltenfilter filtriert werden. Bei mehrtägigem Stehen der Lösung in Zimmertemperatur krystallisiert das Xanthin in Drusen rhombischer Plättchen an der Wand und am Boden des Gefässes aus. Sie werden auf einem Filter nacheinander mit Wasser, Alkohol, Äther gewaschen. Weniger vorteilhaft ist ein anderes Verfahren, bei welchem eine alkalische Lösung von 1 g Xanthin in 700—750 ccm heissem Wasser mit $\frac{1}{3}$ Volum Alkohol vermischt und mit Essigsäure übersättigt wird; hier erfolgt die Krystallisation langsamer.

Nachdem aus der Xanthinfraktion das Heteroxanthin mittels seiner schwer löslichen Natriumverbindung abgeschieden war, verfuhren Krüger und Salomon[1]) zur weiteren Aufarbeitung dieser Fraktion so, dass die in Lösung gebliebenen Basen aus der heissen Mutterlauge durch Neutralisieren mit Salzsäure und der Rest durch ammoniakalische Silberlösung niedergeschlagen wurde. Beide Niederschläge wurden in Salpetersäure von 1,1 Dichte gelöst und mit 10% Silbernitrat gefällt. Der dabei entstandene Niederschlag enthielt Xanthin und 1-Methylxanthin. Das Filtrat schied nach dem Fällen mit Ammoniak und dem Zerlegen des Niederschlags mit Schwefelwasserstoff beim Konzentrieren der Lösung noch Heteroxanthin mit etwas Xanthin ab, in Lösung blieb Paraxanthin. Die beiden Basen wurden an hren Natriumsalzen erkannt.

β) Für die Darstellung und den Nachweis des Xanthins und seiner Homologen im kleinen (aus einigen Liter Harn) gibt Salomon[2]) noch folgende Vorschrift.

Nach der Zerlegung des ersten Silberniederschlags mit Schwefelwasserstoff wird das Filtrat zur Trockne verdunstet und der Rückstand nach Salkowski[3]) mit 30fach verdünnter Schwefelsäure erwärmt, welche die Xanthinbasen aufnimmt und die Harnsäure fast ganz zurücklässt. Die heiss filtrierte Lösung wird mit Ammoniak übersättigt, nach dem Erkalten wieder filtriert und mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt, der Niederschlag schwefelsäurefrei gewaschen, in heisser Salpetersäure von 1,1 Dichte gelöst und die Xanthinfraktion nach III. 1. a. α) S. 990 weiter behandelt. Die Lösung der Xanthinbasen wird eingedampft.

Sind im Rückstand Krystalle, Körner oder Knollen vorhanden, so nimmt man sie, wenn nötig unter Verflüssigung des Rückstandes durch Anwärmen, heraus und versucht sie aus warmem Wasser umzukrystallisieren. Es sind zwei Fälle möglich; entweder scheiden sich Krystalle und Krystallaggregate aus, oder amorphe und knollige Massen. Das Auftreten von Krystallen in den typischen Formen des Paraxanthins beweist allein schon die Gegenwart dieser Basis; bestätigt wird sie dadurch, dass ein Krystall oder Korn sich nach dem Befeuchten mit Wasser in starker Natronlauge mit einem Krystallrasen überzieht.

Die amorphen Knollen können aus Paraxanthin, Heteroxanthin oder Xanthin bestehen. Man behandelt einen kleinen Teil der knolligen Masse mit Natronlauge und befreit die Krystalle, wenn sich solche ausscheiden, auf einer porösen Platte von der überschüssigen Lauge. Scheiden sich beim Eintragen der Krystalle in eine Ammonsalzlösung Tafeln oder Büschel grosser Nadeln aus, so ist Paraxanthin nachgewiesen, fallen dagegen amorphe Massen aus, die allmählich Knollenform an-

[1]) Zeitschr. f. phys. Ch. 24.
[2]) Salomon, Virchows Arch. 125. 562. 1891.
[3]) Salkowski, Virchows Arch. 50. 193. 1870.

Digitized by Google

nehmen, so ist die Anwesenheit von Heteroxanthin wahrscheinlich. Um sich hierüber Gewissheit zu verschaffen, kocht man das ganze verfügbare Material mit wenig Wasser aus, löst den grösseren Teil des ungelösten in verdünnter Natronlauge und lässt langsam verdunsten. Das Auftreten von doppelbrechenden Zwillingskrystallen beweist die Gegenwart von Heteroxanthin. Lösen sich die Körner leicht und schnell in wenig Natronlauge, so ist wahrscheinlich Xanthin vorhanden, worüber die Xanthinprobe Aufschluss verschafft.

Finden sich im Abdampfungsrückstand keine Körner vor, so spült man die vorher getrocknete Masse zur Entfernung der Ammonsalze mit Wasser ab, löst in wenig Natronlauge, lässt langsam verdunsten und untersucht weiter wie vorher.

γ) Trennung des Xanthins von der Harnsäure. Wiewohl sich das Xanthin in Salzsäure löst, die Harnsäure aber nicht oder doch nur wenig, so lässt sich eine scharfe Trennung beider Körper doch nicht mittels Salzsäure bewirken, weil die Löslichkeit des Xanthins in Salzsäure eine zu geringe ist und sich das Xanthin aus der Lösung leicht wieder abscheidet (Wulff). Die Unzulänglichkeit eines solchen Verfahrens ist von Horbaczewski[1]) durch quantitative Versuche erwiesen worden. Auch die Löslichkeit des Xanthins in Ammoniak und die Schwerlöslichkeit des sauren Ammonurats lässt sich für diesen Zweck nicht verwenden, da nach Horbaczewski aus einer Lösung von Harnsäure und Xanthin in wenig Natronlauge die Harnsäure auf Zusatz von Salmiak bei weitem nicht vollständig ausfällt.

Wenn es darauf ankommt, das Xanthin vollständig von beigemengter Harnsäure zu trennen, so kann man sich einer der folgenden Methoden bedienen.

γ α) Verfahren von Wulff[2]). Man versetzt das Gemenge auf 0,1 g Trockensubstanz mit 10 ccm einer Salpetersäure, welche durch Verdünnen von 5 Teilen Salpetersäure von 1,4 Dichte auf 100 hergestellt ist, erwärmt unter Umschütteln im Wasserbad bis zur Beendigung der Gasentwickelung und kocht kurze Zeit auf. Bei Anwesenheit von viel Xanthin kann ein Teil desselben ungelöst bleiben. Man versetzt darauf die Flüssigkeit in geringem Überschuss mit (reinem) Ammoniak. Eine dabei zuweilen auftretende, von Oxydationsprodukten der Harnsäure herrührende Rotfärbung verschwindet beim Erwärmen auf Zusatz von noch etwas Ammoniak (die von rohem Ammoniak verursachte nicht). Fügt man dann schwach ammoniakalische Silberlösung hinzu, so entsteht bei Gegenwart von Xanthin ein voluminöser flockiger Niederschlag von Xanthinsilber. Tritt dieser Niederschlag auch nach einiger Zeit nicht ein, so können immer noch geringe Mengen Xanthin in der ammoniakalischen Flüssigkeit gelöst enthalten sein. Man stumpft dann das Ammoniak, selbst bis zur neutralen Reaktion, mit Salpetersäure ab, von etwa ausfallenden geringen Mengen Chlorsilber, das sich fest am Boden absetzt, lässt sich dann immer noch das flockige Xanthinsilber unterscheiden. Es lassen sich so noch 5 mg Xanthin neben 1 g Harnsäure nachweisen.

Das Verfahren ist, abgesehen von geringen Verlusten, quantitativ genau und eignet sich für die Bestimmung des Xanthins. Kleine Mengen werden (nach dem Auswaschen und Trocknen bei 120°) als Xanthinsilber gewogen oder aus dem beim Glühen zurückbleibenden metallischen Silber berechnet. Grössere Mengen bestimmt man direkt, indem man nach der Oxydation die Flüssigkeit mit Ammoniak

---

[1]) J. Horbaczewski, Zeitschr. f. physiol. Ch. 18. 343. 1893.
[2]) C. Wulff, Zeitschr. f. physiol. Ch. 17. 640. 1893.

Digitized by Google

schwach alkalisch macht, auf dem Wasserbad kurze Zeit erwärmt, mit Essigsäure ansäuert und das gleiche Volumen Alkohol hinzusetzt. Nach 12 Stunden wird das Xanthinsilber abfiltriert, mit alkoholhaltigem Wasser gewaschen und bei 110° getrocknet.

Das Verfahren wird genau nach der Vorschrift zu befolgen sein. Salkowski [1]) nahm bei der Behandlung der (gesamten) Xanthinbasen aus Harn mit Salpetersäure wahr, dass um so weniger von ihnen erhalten wurde, unter Umständen fast nichts, je mehr Salpetersäure verwendet wurde und je länger das Erhitzen dauerte.

Bei diesem Verfahren wird die Harnsäure zerstört. Eine Scheidung unter Erhaltung der Harnsäure lässt sich durch Schwefelsäure erreichen.

$\gamma\,\beta$) Nach Salkowski [2]) wird die trockene Substanz mit 2—3%iger Schwefelsäure erwärmt, am nächsten Tag filtriert, mit Ammoniak übersättigt, von etwa ausfallendem Ammonurat abfiltriert und nun mit ammoniakalischer Silberlösung gefällt. Dieses Verfahren ist unsicher. Dagegen gibt das folgende gute Resultate.

$\gamma\,\gamma$) Nach Horbaczewski [3]) wird das Gemenge bei 110° getrocknet, auf 0,1 g in einem Platinschälchen mit 2 ccm reiner Schwefelsäure übergossen und unter gelindem Erwärmen gelöst. Der Lösung fügt man die vierfache Menge Wasser zu, rührt fleissig bis zur beginnenden Abscheidung der Harnsäure, filtriert nach 3—6 Stunden durch ein ganz kleines Filter und wäscht erst mit schwefelsäurehaltigem Wasser, dann mit reinem. Zur Entfernung einer Spur anhaftenden Xanthins löst man die Harnsäure in dem Platinschälchen in Natronlauge e natrio, säuert mit Salzsäure an, dampft auf einige Kubikzentimeter ein und kann dann die Harnsäure nach 1 Stunde abfiltrieren. Die geringe Menge Harnsäure, welche sich neben dem Xanthin noch in Lösung befindet, lässt sich (nach $\gamma\,\alpha$) mit Salpetersäure zerstören. Quantitativ wird die Harnsäure aus der schwefelsauren Lösung durch Alkohol gefällt (Kossa S. 1065), ob hiebei jedoch die Purinbasen gelöst bleiben und nicht z. T. auch ausfallen, ist nicht untersucht.

Auch dieses Verfahren ist zur quantitativen Bestimmung des Xanthins und ausserdem der Harnsäure tauglich. Die Harnsäure wird dazu auf einem Glaswollfilter mit sehr verdünnter Salzsäure, mit Wasser, Alkohol, Äther gewaschen und bei 110° getrocknet. Man findet ungefähr 3 % zu wenig.

$\gamma\,\delta$) Man verfährt nach Krüger und Schmid, indem man die Harnsäure durch Braunstein oxydiert (S. 983).

b) Untersuchung der Hypoxanthinfraktion.

Für diese gibt es keine so erschöpfende Vorschrift, wie für die Untersuchung der Xanthinfraktion. Es liegen einzelne gelegentliche Beobachtungen vor und sind Versuche zur Trennung immer nur einiger der Basen dieser Fraktion, aber begreiflicherweise nicht aller auf einmal nebeneinander angestellt worden.

Der Niederschlag kann zur Entfernung etwa noch beigemengter Reste der Xanthinfraktion noch einmal aus Salpetersäure von 1,1 Dichte umkrystallisiert werden, unter Zusatz von Silbernitrat, weil sich das Hypoxanthin-Silbernitrat dann viel schwerer löst, als in reiner Salpetersäure.

Die Zersetzung kann nach dem älteren Verfahren in der Weise vorgenommen werden, dass man den Niederschlag zuerst zur Überführung der Verbindungen $X.AgNO_3$ in solche von $X.Ag_2O$ unter Zusatz von Silbernitrat mit Ammoniak

[1]) Salkowski, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1894. 515.
[2]) Salkowski, Virchows Arch. 50. 193 u. a. a. O.
[3]) Horbaczewski, a. a. O. 344.

Digitized by Google

digeriert, das Umwandlungsprodukt silberfrei wäscht und dann mit Schwefelwasserstoff behandelt, wobei die schwer löslichen Basen wenigstens zum Teil bei dem Schwefelsilber zurückbleiben können und diesem durch Lösungsmittel entzogen werden müssen. Schindler[1]) zerlegt den Niederschlag mit Schwefelammon, um das Schwefelsilber in abfiltrierbarem Zustand zu erhalten, in der Weise, dass er dem in heissem Wasser suspendierten Niederschlag tropfenweise, unter Vermeidung eines zu grossen Überschusses, eine schwache Schwefelammonlösung (aus 4 %igem Ammoniak) hinzufügt und das Schwefelsilber sich in der Wärme absetzen lässt. Auch so braucht nicht alles Guanin in Lösung zu gehen. Noch besser wäre in dieser Hinsicht die Behandlung des Niederschlages mit Schwefelnatrium.

Man kann auch, wie Kossel, die Silbernitratverbindung sogleich mit Schwefelwasserstoff behandeln, was den Vorteil darbietet, dass die frei werdende Salpetersäure die Basen in Lösung bringt. Bruhns[2]) empfiehlt, den Niederschlag durch Salzsäure zu zersetzen, was bei gehöriger Verdünnung sehr wohl geschehen könne, ohne dass man Gefahr laufe, Guanin in Xanthin und Adenin in Hypoxanthin umzuwandeln; nur lassen sich nach ihm die Basen dem klumpig gewordenen Chlorsilber durch Auskochen mit Säure nur schwer vollständig entziehen. Diese zwei letzteren Methoden verdienen den Vorzug, weil sie einfacher und zweckmässiger sind als das ältere Verfahren.

Hat man bei der Zersetzung des Silberniederschlags eine saure Lösung erhalten, so übersättigt man diese schwach mit Ammoniak, wobei Guanin und Epiguanin ausfallen können. Beim Verdunsten der übrigen ammoniakalischen Lösung scheiden sich dann ab das Adenin und Hypoxanthin; diejenige Basis zuerst, welche zuerst die Flüssigkeit sättigt. Man kann diese Basen in Chloride oder Sulfate verwandeln und durch fraktionierte Krystallisation zu trennen versuchen. Besser wird man aber durch Benutzung anderer ihrer Eigenschaften als durch die verschiedene Löslichkeit ihrer Salze zum Ziele gelangen.

Guanin. Von etwa beigemengter Harnsäure lässt sich das Guanin nach Horbaczewski[3]) sehr genau befreien mittels desselben Verfahrens (S. 994) wie das Xanthin. — Vom Epiguanin lässt es sich trennen durch heisses Wasser, schneller aber weniger vollkommen durch verdünntes Ammoniak, wobei das Epiguanin in Lösung geht und dann wieder auskrystallisiert. Beide Basen unterscheiden sich schon dadurch, dass das Guanin dabei amorph, das Epiguanin krystallinisch gewonnen wird. Das krystallisierte Guanin besitzt ganz andere Formen als das Epiguanin. Das Guanin ist ausserdem charakterisiert durch das makroskopische Chlorid (und das Sulfat), das Epiguanin nach Krüger durch das Chloroplatinat. Die Pikrate beider Basen besitzen verschiedene Gestalt, beide Basen geben die Xanthinreaktion, aber nicht die Weidelsche Probe. — Vom Adenin ist das Guanin verschieden durch die krystallinische Beschaffenheit des Adenins, die grössere Löslichkeit dieses in Ammoniak und dadurch, dass es mit Goldchlorid kein Chloraurat liefert, wie das Adenin. Die Pikrate

[1]) S. Schindler, Zeitschr. f. physiol. Ch. 13. 433. 1889.
[2]) Kossel, daselbst 10. 251. — Bruhns, daselbst 14. 551 u. 560.
[3]) Horbaczewski, daselbst 18. 348.

Digitized by Google

beider sind schwer löslich. Eine Trennung beider ist nach Wulff[1]) möglich, wenn man die stark saure Lösung mit Metaphosphorsäure versetzt, oder wenn man mit überschüssiger Metaphosphorsäure fällt; unter diesen Umständen scheidet sich das Guanin als Metaphosphat ab, das Adenin dagegen nicht. Das Guanin gibt die Xanthinprobe, das Adenin nicht. — Vom Hypoxanthin lässt sich das Guanin nicht mittels Pikrinsäure trennen, weil beide Pikrate schwer löslich sind und beide langsam ausfallen, wohl aber durch Metaphosphorsäure; das Guanin wird niedergeschlagen, das Hypoxanthin nicht. Aus dem Filtrat lässt sich das Hypoxanthin als Silberpikrat abscheiden, oder besser mit ammoniakalischer Silberlösung (Wulff).

Adenin. Die wasserhaltigen Krystalle des Adenins trüben sich bei 53°. Vom Hypoxanthin, welches amorph ist, lässt es sich als Pikrat trennen, auch in der Verbindung beider. Das Hypoxanthinpikrat ist zwar auch schwer löslich, scheidet sich aber langsamer aus. Das Adenin fällt nach Bruhns aus neutraler oder schwach saurer Lösung namentlich in Gegenwart von Natriumpikrat vollständig aus; man versetzt zur Fällung entweder die wässerige Lösung beider Basen mit wässeriger Pikrinsäurelösung, oder besser die salzsaure Lösung mit einem Überschuss von Natriumpikrat (s. o. S. 936). Es ist aber nach Wulff nur dann Aussicht auf ein Gelingen der Trennung, wenn der Gehalt der Lösung nur gering (die Lösung verdünnt) ist, und wenn man nach der Fällung sogleich filtriert. Aus dem Filtrat lässt sich nach Bruhns das Hypoxanthin durch ammoniakalische Silberlösung gewinnen, oder aus der ganz neutralen pikrinsäurehaltigen Lösung durch Silbernitrat. Das Adenin wird zwar in der Kälte von Kupfersulfat und Thiosulfat als Kupferoxydulverbindung niedergeschlagen, das Hypoxanthin nicht, gleichwohl lassen sich die Basen auf Grund dieses Verhaltens nicht trennen; denn aus einer Lösung beider freien Basen nebeneinander fällt nach Krüger[2]) mit dem Adenin auch ein Teil des Hypoxanthins aus und lässt man das Reagens auf Salze der Basen einwirken, so ist die Fällung des Adenins nicht vollständig. Das Adenin gibt ein gut krystallisierendes Chloraurat, das Hypoxanthin nicht; die Platinsalze beider sind dagegen krystallinisch. Beide Basen geben weder die Xanthinprobe noch die Weidelsche Reaktion, aber bei beiden tritt Braunfärbung ein, wenn ihre Lösung nach dem Behandeln mit Zink und Salzsäure alkalisch gemacht wird.

Krüger und Salomon teilten die Hypoxanthinfraktion folgendermassen auf.

[1]) Wulff, Zeitschr. f. physiol. Ch. **17**. 504.

[2]) Bruhns, daselbst **14**. 538. — Wulff, daselbst **19**. 499. — Bruhns, a. a. O. 557. — Krüger, Zeitschr. f. physiol. Ch. **20**. 375.

Digitized by Google

Die Hypoxanthinfraktion wurde in die Verbindung mit Silberoxyd übergeführt, diese nach dem Wegwaschen der Salpetersäure mit Salzsäure zersetzt, die Lösung nach dem Neutralisieren mit Natronlauge der Reihe nach mit Bleiessig, mit Bleiacetat und Ammoniak und mit ammoniakalischer Silberlösung ausgefällt. Der mit Bleiessig entstandene Niederschlag enthielt Xanthin und 1-Methylxanthin, der mit Bleiacetat und Ammoniak 1-Methylxanthin, Hypoxanthin und wenig Adenin, der Silberniederschlag Epiguanin und Adenin. Adenin und Epiguanin sind also durch die Bleisalze nicht gefällt worden. In den Bleiessigniederschlag waren Xanthin und 1-Methylxanthin übergegangen, wiewohl diese Basen in reinem Zustand durch das Reagens nicht gefällt werden; sie wurden nicht getrennt. Aus der Lösung des vom Blei befreiten, mit ammoniakalischem Bleiacetat gewonnenen Niederschlags krystallisierte das 1-Methylxanthin direkt aus; die Mutterlauge wurde mit Salzsäure eingedampft, der Rückstand auf dem Wasserbad so lange erwärmt, bis keine Salzsäuredämpfe mehr entwichen und mit wenig kaltem Wasser digeriert; das 1-Methylxanthin blieb als solches ungelöst zurück, in Lösung gingen als salzsaure Salze das Adenin und das Hypoxanthin. Das Adenin wurde mit Pikrinsäure ausgefällt, das Hypoxanthin nach Entfernung der Pikrinsäure durch Schütteln mit Schwefelsäure und Benzol erst in die Verbindung mit Silberoxyd und dann in das charakteristische Nitrat und Pikrat übergeführt und als Chlorid analysiert. Der das Epiguanin und die Hauptmenge des Adenins enthaltende Silberniederschlag wurde mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Aus der Lösung krystallisierte das Epiguanin schon beim Einengen aus. Das Filtrat enthielt das Adenin, wie sich aus seiner Fällbarkeit durch Kupfersulfat und Thiosulfat und der Untersuchung des Pikrats, Chloraurats und Sulfats ergab.

2. Trennung der Basen in den salzsauren Mutterlaugen der Harnsäure. (Krüger und Salomon[1])).

Eine Behandlung der Mutterlaugen mit Tierkohle ist unzweckmässig (s. Adenin S. 950). Sie werden nach dem Abtrennen der Harnsäure bei möglichst niedriger Temperatur auf dem Wasserbade (Überleiten eines Luftstromes, Faustsches Wasserbad) eingedampft und die Salzsäure durch mehrmaliges Eindampfen mit Alkohol entfernt.

Der durch den Alkohol pulvrig gewordene Rückstand wird mit Wasser bei 40° digeriert, nach mehrstündigem Stehen in der Kälte abfiltriert und mit Wasser salzsäurefrei gewaschen. Man wäscht ihn darauf

[1]) Zeitschr. f. ph. Ch. 24.

noch mit Alkohol und mit Äther. Das Filtrat wird noch einmal eingedampft und in derselben Weise behandelt, wobei nur ein geringer, in Wasser unlöslicher Rückstand bleibt, der mit dem ersten vereinigt wird. Der Rückstand besteht aus Xanthin, Heteroxanthin und 1-Methylxanthin, während das Paraxanthin, von den Gliedern der Xanthingruppe das am leichtesten lösliche, mit den salzsauren Salzen der übrigen Basen in Lösung bleibt.

Um die drei Basen zu trennen löst man sie in der 15 fachen Menge warmer 3,3%iger Natronlauge, beim Erkalten fällt das Natriumsalz des Heteroxanthins vollständig aus. Nach 24 stündigem Stehen filtriert man, rührt dann je 60 ccm des Filtrats nach dem Erwärmen auf 60° in ein kaltes Gemisch von 20 ccm Wasser und 20 ccm ausgekochter konzentrierter Salpetersäure allmählich ein und lässt mehrere Stunden bei niederer Temperatur stehen, wobei sich das Xanthinnitrat vollständig abscheidet. Von noch etwas beigemengtem 1-Methylxanthin befreit man den Niederschlag in der Weise, dass man ihn mit Wasser übergiesst, in der Kälte neutralisiert, heiss in möglichst wenig Natronlauge löst und die 60° warme Lösung wieder, wie vorher, in die halbverdünnte Salpetersäure giesst; die Mengenverhältnisse wählt man so, dass 3 g des rohen Nitrats wieder auf 100 ccm Flüssigkeit mit 20 ccm konzentrierter Salpetersäure kommen. Das Xanthinnitrat ist rein, sobald es sich als schweres Krystallpulver in den charakteristischen Formen absetzt. Um aus dem Nitrat das freie Xanthin darzustellen, wird das Salz in Ammoniak gelöst und das überschüssige Ammoniak verjagt; es scheidet sich dabei völlig rein und schneeweiss ab. Das 1-Methylxanthin wird aus der vom Xanthinnitrat abfiltrierten Flüssigkeit durch Neutralisieren mit Natriumcarbonat gefällt, der dabei in Lösung bleibende Rest durch ammoniakalische Silberlösung, oder bequemer, nach dem Neutralisieren, durch Kupfersulfat und Natriumbisulfit.

Aus der salzsauren Lösung der übrigen Basen scheidet sich das Epiguanin schon bei schwachem Übersättigen derselben mit Ammoniak sofort in kleinen glänzenden Prismen ab. Das Filtrat wird durch Erwärmen vom Ammoniak befreit und die neutrale, nicht zu konzentrierte Lösung in der Kälte mit 1,1%iger Pikrinsäurelösung vollständig ausgefällt, der aus Adeninpikrat bestehende Niederschlag sofort abfiltriert und mehrmals mit kaltem Wasser gewaschen. Ein grosser Überschuss von Pikrinsäure ist zu vermeiden. Aus dem Pikrat gewinnt man das freie Adenin in der Weise, dass man das Salz in heisser verdünnter Salzsäure löst und der noch heissen Lösung die Pikrinsäure durch Schütteln mit Toluol entzieht. Das Filtrat vom pikrinsauren Adenin wird mit Schwefelsäure abgesäuert

Digitized by Google

und die Lösung durch Toluol oder Benzol in der Kälte von der Pikrinsäure befreit. Das Ausschütteln der Pikrinsäure kann man nach Jones[1]) sehr erleichtern bzw. vermeiden, wenn man das Adeninpikrat in Ammoniak löst und mit ammoniakalischer Silberlösung fällt, die Fällung mit Salzsäure zerlegt und nun erst den geringen Pikrinsäurerest durch Ausschütteln mit Benzol entfernt; ebenso kann man nach Jones mit den pikrinsäurehaltigen Mutterlaugen des Adenins verfahren. Die noch in Lösung befindlichen Basen werden durch ammoniakalische Silberlösung oder durch Kupfersulfat und Bisulfit gefällt, der Niederschlag salzsäurefrei gewaschen, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das Filtrat verdunstet. Vom trockenen Rückstand löst man je 3 g in 100 ccm auf das 10 fache Volumen verdünnter, konzentrierter Salpetersäure in der Wärme; beim Erkalten krystallisiert reines Hypoxanthinnitrat aus.

Das Filtrat vom Hypoxanthinnitrat enthält nur noch geringe Mengen Hypoxanthin neben einem Rest von Heteroxanthin, 1-Methylxanthin und das Paraxanthin. Man fällt sie wieder in Verbindung mit Silberoxyd oder Kupferoxydul und dampft die Lösung der in Freiheit gesetzten Basen ein. Der Rückstand wird in wenig verdünnter Salzsäure gelöst, die Lösung verdunstet und das Verdampfen nach Zusatz von Wasser mehrmals wiederholt, endlich der Rückstand mit wenig kaltem Wasser digeriert. Im Rückstand befindet sich Heteroxanthin und 1-Methylxanthin, welche durch 3,3%ige Lauge getrennt werden. Der in der Lösung befindliche Rest des Hypoxanthins und das Paraxanthin werden zur Beseitigung der Salzsäure wieder in die Silber- oder Kupferoxydulverbindung übergeführt, die gefällten Basen isoliert, die Lösung zur Trockene verdunstet und der Rückstand in möglichst wenig auf das 10 fache verdünnter warmer Salpetersäure gelöst. Die Mutterlauge von dem auskrystallisierten Hypoxanthinnitrat enthält das Paraxanthin, welches, in Freiheit gesetzt, sehr rein in Nadeln auskrystallisiert; das Paraxanthin könnte aus der Mutterlauge auch in Form seines Natriumsalzes gewonnen werden.

Falls unter den Basen auch Guanin enthalten ist, so findet sich dasselbe zum geringeren Teil beim Xanthin; der grössere Teil wird zugleich mit dem Epiguanin abgeschieden und lässt sich von diesem durch heisses (schwach ammoniakhaltiges) Wasser trennen, wobei das Epiguanin in Lösung geht, das Guanin zurückbleibt.

Zweckmässig wird das Guanin durch direkte Behandlung der Mutterlaugen der Harnsäure mit Ammoniak entfernt. Auf je 50 ccm setzt man 30 ccm 10%iges Ammoniak zu. Nach 24 Stunden filtriert man ab

[1]) l. c.

Digitized by Google

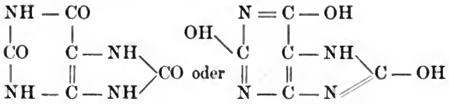
und digeriert den Niederschlag mit 2%igem Ammoniak. Mit dem Filtrat verfährt man genau wie oben (Aufteilung in die Xanthin- und Hypoxanthinfraktion) eventuell nach nochmaliger Fällung mit ammoniakalischer Silberlösung und Zerlegen der Fällung. Das Guanin löst man zur Reinigung in Natronlauge und fällt es mit Essigsäure aus. Zur Analyse stellt man zweckmässig das mit $2H_2O$ krystallisierende Sulfat dar.

Anhang.

Theobromin und Kaffein. Da die beiden weder durch ammoniakalische Silberlösung noch durch Kupfersulfat und Bisulfit gefällt werden, benützte Krüger[1]) die Phosphorwolframsäure zu ihrer Fällung. Es wird genau nach Hofmeister verfahren (s. S. 873). Die Kynurensäure fällt zusammen mit der Harnsäure beim Entfernen des Baryts mit Schwefelsäure aus. Im Filtrat werden die übrigen Basen durch Kupfersulfat und Bisulfit niedergeschlagen. Das Kaffein und Theobromin gehen in das Filtrat. Dieses wird durch Schwefelwasserstoff entkupfert und nach starkem Einengen das Kaffein und Theobromin mit Chloroform ausgeschüttelt. Das Chloroform wird auf dem Wasserbade verjagt und der Rückstand in Wasser gelöst. In der Lösung bewirkt Silbernitrat eine Fällung von Theobromin, welche durch wenig Ammoniak vermehrt wird, aber schon in geringem Ammoniaküberschuss löslich ist. Man vertreibt diesen durch Wegkochen und filtriert das Theobrominsilber ab. Das Filtrat wird angesäuert und ihm mit Chloroform das Kaffein entzogen.

C. Die Harnsäure.

2-6-8-Trioxypurin. $C_5H_4N_4O_3$. Mol.-Gew. 168. C = 35,71%; H = 2,38%; N = 33,33%.



Laktamform Laktimform

Die Harnsäure wurde von Scheele im Jahre 1776 im menschlichen Harn entdeckt[2]), von Pearson in den Gichtknoten im Jahre 1798[3]).

[1]) B. B. **32**. 2818. 1899.
[2]) Opuscula **2**. 73. 1776.
[3]) Phys. transac. of the roy. soc. London **15**. 1798.

Digitized by Google

Vorkommen: Die Harnsäure findet sich in allen Säugetierharnen vor, auch bei purinfreier Kost und im Hunger. Dass sie daselbst nicht immer, insbesondere bei den fleischfressenden, gefunden wurde, scheint in ungenauer Methodik begründet zu sein. Im Harn des Hundshais hat sie Herter[1]), im Harn des Karpfens Rywosch[2]) vermisst. In grosser Menge ist sie in den Exkrementen der Sauropsiden enthalten. Frischer Peruguano enthält 14—20% Harnsäure (Löwe[3])). Auch in den Exkrementen der Schnecken und Insekten ist sie nachgewiesen worden. Die Substanz der weissen Schmetterlingsschuppen besteht aus Harnsäure.

Synthesen: 1. Durch Schmelzen von Glykokoll oder Trichlormilchsäureamid mit Harnstoff (Horbaczewski[4])). 2. Aus Isodialursäure und Harnstoff (R. Behrend und Roosen[5])). 3. Durch Erhitzen von Pseudoharnsäure (Fischer und Ach[6])). 4. Das nach der Traubeschen Synthese erhaltene Diamino-Dioxypyrimidin gibt mit Chlorkohlensäureester ein Urethan, welches bei 180°—190° in Harnsäure und Alkohol zerfällt (W. Traube[7])). Ausser durch diese Synthesen ist die Konstitution der Harnsäure noch bestimmt durch den Abbau zu Alloxan und Harnstoff (Liebig und Wöhler[8])) und den Abbau der zwei Monomethylharnsäuren zu Methylalloxan und Harnstoff bzw. zu Alloxan und Methylharnstoff (E. Fischer[9])).

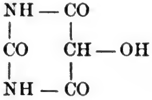
Physiologisches Verhalten: Die Harnsäure entsteht im Organismus der Sauropsiden zum überwiegenden Teile synthetisch. Die Synthese erfolgt in der Leber aus milchsaurem Ammon. Nach Leberexstirpation, nicht aber nach Unterbindung nur eines Teils der Lebergefässe und nach nur teilweiser Leberexstirpation, verschwindet die Harnsäure aus dem Harn der Vögel (Gänse) fast vollständig[10]). Dafür tritt im Harn milchsaures Ammoniak auf[10]). Bei der Durchblutung der überlebenden Vogelleber mit milchsaurem Ammoniak entsteht Harnsäure[11]). Zugeführten Harnstoff verwandeln die Vögel in Harnsäure und scheiden diese aus[12]). Doch hat dieses Vermögen eine Grenze, wird noch mehr Harnstoff zugeführt, so wird er unverändert ausge-

---

1) Mitt. a. d. zool. St. Neapel. **10**. 341. J. T. 1891. 309.
2) Wiener med. Wochenschr. 1893. 47.
3) Journ. f. prakt. Chem. **96**. 409.
4) Monatsh. f. Ch. **3**. 796. 1882; **6**. 356. 1885; **8**. 201. 1887.
5) Ann. Ch. u. Pharmacie. **251**. 240. 1889.
6) B. B. **28**. 2473. 1895; **30**. 559. 1897.
7) B. B. **33**. 3045. 1900.
8) Ann. d. Ch. u. Ph. **26**. 256. 1838.
9) B. B. **17**. 1716, 1785. 1884.
10) O. Minkowski, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **21**. 41. 1886; **31**. 214. 1893.
11) Kowalewski und Salaskin, Zeitschr. f. ph. Ch. **33**. 210. 1901.
12) Hans, Horst Mayer, Dissertation. Königsberg.

Digitized by Google

schieden[1]). Durch gleichzeitige Zufuhr von Glycerin, Hydrakrylsäure, Milchsäure, Brenztraubensäure, Malon-, Tartron-, Mesoxal- und β-Oxybuttersäure wird das Vermögen der Vögel, aus Harnstoff Harnsäure zu bilden, gesteigert[1]). Propion-, Butter-, α-Oxybutter-, Bernstein- und Äpfelsäure sind unwirksam[1]). Die Synthese findet also aus Harnstoff und einer dreigliedrigen Kohlenstoffkette wahrscheinlich über Dialursäure (Tartronylharnstoff) statt[1]).



Ausser dieser synthetischen Harnsäurebildung findet im Vogelorganismus auch eine oxydative Harnsäurebildung statt, aus den im Stoffwechsel freiwerdenden Purinen. An entleberte Gänse verfüttertes Hypoxanthin wird zu 70% als Harnsäure ausgeschieden[2]). Dieser Teil der von den Vögeln ausgeschiedenen Gesamtharnsäure ist jedoch im Vergleich zu dem synthetisch entstandenen gering. Die Harnsäure wird von den Vögeln zum Teil wenigstens in fester Form als ein Gemenge von Biurat und Harnsäure ausgeschieden. Die Angaben von Roberts[3]), dass im unzersetzten Harn der Vögel und Schlangen die Harnsäure als Tetraurat enthalten sei, sind irrtümlich, da Tetraurate (Hemiurate, zweifachsaure Salze) nicht existieren (s. S. 1016). Unterbindet man bei Vögeln die Nieren oder schädigt sie durch Vergiftung der Tiere mit Chromsalzen u. a., so lagert sich allenthalben im Organismus Harnsäure als Monourat in fester Form ab[4]). Ähnliche Harnsäureablagerungen, insbesondere an den Extremitäten, entstehen infolge ausschliesslicher Fleischfütterung bei Hühnern[5]). Diese letztere experimentelle „Vogelgicht" lässt sich durch reichliche Zufuhr von Kalksalzen vermeiden[4]).

Im Organismus der Säugetiere (Fische, Amphibien?) entsteht die Harnsäure ausschliesslich oxydativ aus den im Körper freiwerdenden oder mit der Nahrung eingeführten Purinen. Im Säugetier findet keine Harnsäuresynthese statt. Die Angaben über eine solche

[1]) H. Wiener, Beiträge zur ch. Phys. u. Path. Herausg. von Fr. Hofmeister. 2. 42. 1902.
[2]) v. Mach, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 24. 389. 1888.
[3]) On the chemistry and therapeutics of uirc acid gravel und gout. (Croonian lecture for 1892). London. Smith, Elder & Co. 1892. 9.
[4]) Ebstein, Natur u. Behandlung der Gicht. Wiesbaden 1882.
[5]) Kionka, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 44. 186. 1900.
[6]) Kionka, ebenda, 44. 207. 1900.

Digitized by Google

haben sich, soweit sie nachgeprüft sind, als irrtümlich erwiesen. Kossel und Steudel haben die Vermutung geäussert, dass gewisse Pyrimidinderivate im Organismus zu Harnsäure synthesiert werden könnten[1]). Doch fehlt es dieser Vermutung an der experimentellen Begründung[2]). H. Wiener hat auf Grund von Überlebendversuchen angenommen, dass die Säugetierleber einer ähnlichen Synthese der Harnsäure aus Dialursäure und Harnstoff bzw. aus Harnstoff und Tartronsäure fähig sei, wie der Vogelorganismus. Beim Schütteln von Rinderleberbrei wurde mehr Harnsäure gebildet, wenn die genannten Substanzen zugegen waren. Wiener hat dann auch beim Menschen eine geringe Wirkung von der Fütterung der genannten Säuren auf die Harnsäureausscheidung zu sehen geglaubt[3]). R. Burian hat gezeigt, dass das Ergebnis der Wienerschen Leberversuche nicht durch eine Harnsäuresynthese, sondern durch eine katalytische Beschleunigung der oxydativen Harnsäurebildung in der überlebenden Rinderleber zustande kommt[4]). Wie Tartron- und Dialursäure wirkt auch die Salicylsäure, doch hängt die Wirkung nicht etwa von einer Abnahme der Alkalescenz ab. Ascoli und Izar beobachteten eine Wiederbildung von durch Hundeleber zerlegter Harnsäure bei Luftabschluss und Kohlensäureanwesenheit[5]). Diese Wiederbildung der Harnsäure beruht nach den mitgeteilten Versuchen auf der Anwesenheit eines koktostabilen, alkohollöslichen Koferments in der Leber und einem thermolabilen Ferment im Blutserum. Das letztere verliert beim Hungertier seine Wirksamkeit. Blut und Leber können von verschiedenen Tieren stammen (z. B. Truthahn und Hund). Beim Studium des Ganges dieser Synthese wurde gefunden, dass von allen untersuchten Säuren mit dreigliedriger Kohlenstoffkette nur Dialursäure zusammen mit Harnstoff bei Kohlensäureanwesenheit in der Leber Harnsäure bildet. Die Harnsäurebildung findet unter diesen Umständen auch beim Durchleiten durch die überlebende Leber statt. Eine Nachprüfung dieser Beobachtungen liegt nicht vor, doch teilt Schittenhelm mit, dass ihm das Grundexperiment (Wiederbildung zersetzter Harnsäure in der Hundeleber in einer Kohlensäureatmosphäre) nicht gelungen sei[6]). Ich selbst habe den Versuch einmal angestellt und wie Schittenhelm ein negatives Resultat gehabt. Hierher gehört auch die Angabe von

[1]) Zeitschr. f. ph. Ch. **38**. 58; **39**. 136.
[2]) Ebenda. **43**. 494. 1905.
[3]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **42**. 275. 1899. Beitr. z. ch. Phys. u. Path. **2**. 42. 1902.
[4]) Zeitschr. f. ph. Ch. **43**. 479. 1905.
[5]) Ascoli und Izar, Ebenda. **62**. 1909. — L. Preti, Ebenda. **62**. 354. 1909. — Bezzola, Izar und Petri, Bioch. terap. sperim. **1**. 241. 1909. — Izar, Zeitschr. f. ph. Ch. **65**. 78. 1910. — Izar, Ebenda. **73**. 317. 1911.
[6]) Oppenheimers Handbuch der Biochemie. G. Fischer, Jena 1911. **4**. 505.

Digitized by Google

Traetta-Mosca und F. Apolloni, dass sich in der Kälberleber aus Cholesterin und Ammoniak Harnsäure bilde. Bei dieser Synthese soll aus Cholesterin α-Oxybuttersäure und aus Ammoniak zunächst Harnstoff werden[1]). Kohlensäure begünstigt die Harnsäurebildung und wie Cholesterin wirkten auch Glycerin, Gärungsmilchsäure und Buttersäure in Kohlensäureatmosphäre Harnsäure bildend[2]). In allen diesen Fällen dürfte es sich wie in den Versuchen von Wiener um durch irgendwelche Umstände beschleunigte oxydative Harnsäurebildung aus den Organpurinen bzw. um gleichzeitige Hemmung der oxydativen Weiterzerstörung der gebildeten Harnsäure handeln.

Die Harnsäure ist beim Menschen und anthropoiden Affen das Hauptendprodukt des Purinstoffwechsels, bei den übrigen Säugetieren kommt ihr jedoch nur die Rolle eines Zwischenprodukts zu. Mit Ausnahme des Menschen und der anthropoiden Affen scheiden die Säugetiere nur wenig Harnsäure aus im Vergleich mit den Mengen von Allantoin, welches bei ihnen das Hauptendprodukt des Purinstoffwechsels darstellt. Die Harnsäure wird von den meisten Säugetieren nahezu quantitativ zu Allantoin oxydiert und dieses im Harn ausgeschieden. Der Mensch jedoch vermag die in seinem Körper entstehende Harnsäure nicht weiter zu zersetzen. Als Beweise für die Unzerstörbarkeit der Harnsäure im Menschen können folgende Punkte angeführt werden: 1. Die Grösse der endogenen Harnsäureausscheidung zeigt pro Individuum und Tag einen sehr konstanten Wert, wiewohl die exogene Ausscheidung einen oft beim selben Individuum sehr wechselnden Betrag von der Einfuhr ausmacht. Daraus kann geschlossen werden, dass die einmal entstandene Harnsäure vollständig als solche ausgeschieden wird, dass aber aus den von aussen zugeführten Vorstufen nicht allemal der gleiche Betrag an Harnsäure für den Stoffwechsel jenseits des Darms hervorgeht. 2. Parenteral eingeführte Purine werden vom Menschen nahezu vollständig als Harnsäure ausgeschieden. 3. Den Organen des Menschen fehlt zum Unterschiede von den Organen der übrigen Säugetiere jedes harnsäurezerstörende Vermögen, wiewohl ihnen insbesondere das Vermögen der oxydativen Harnsäurebildung ebenso wie den Organen der übrigen Säugetiere in reichem Masse zukommt, die Purinfermente also mit alleiniger Ausnahme der Uricooxydase gut nachweisbar sind. Frühere Versuche von Pfeifer, Croftan und Schittenhelm, welche eine Harnsäurezersetzung in menschlichen Organen zu beweisen schienen, waren mit einer unrichtigen Methode angestellt[3]). Dementsprechend ist denn auch Harnsäure in den Organen

[1]) Gazz. chim. ital. **40**. II. 368. 1911.

[2]) F. Traetta-Mosca und Golda Mizenbacher, ebenda, **40**. II. 378. 1911.

[3]) Wiechowski, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **60**. 185. 1909. — Müller und Jones, Zeitschr. f. ph. Ch. **61**. 395. 1909. — Schittenhelm, ebenda, **63**. 248. 1909.

Digitized by Google

und dem Blute des Menschen nachweisbar, insbesondere, wenn die Ausscheidung gehemmt ist (Nephritis)[1]) oder wenn infolge besonderer Umstände (Pneumonie, Leukämie)[2]) die Produktion gesteigert ist oder schliesslich, wenn Vorstufen zugeführt werden[3]). In Transsudaten und Exsudaten kommt immer Harnsäure vor[4]). In der Norm und bei purinfreier Ernährung ist der Harnsäuregehalt des Blutes niedriger, aber Harnsäure ist unter diesen Umständen, entgegen den Angaben von Brugsch und Schittenhelm[5]), doch stets im Blute zu finden (Bass, unveröffentlicht).

Da die geringen Mengen von Purinbasen und Allantoin, welche der Mensch im Harn neben der Harnsäure ausscheidet, vernachlässigt werden können, so gilt alles, was oben (S. 906 ff.) über die Physiologie, Pathologie und Pharmakologie der Gesamtpurinausscheidung gesagt worden ist, soweit der Mensch in Betracht kommt, für die Harnsäure. So ist insbesondere die Harnsäureausscheidung bei purinfreier Kost (die endogene Harnsäureausscheidung) pro Tag und Individuum eine konstante Grösse, wenn auch nicht mit jener Schärfe, wie die Gesamtpurinausscheidung[6]). Sie beträgt für den gesunden Menschen zwischen 0,2 und 0,6 g Harnsäure. Beim Neugeborenen ist sie in den ersten Lebenstagen verhältnismässig hoch, 80—100 mg, um etwa vom 5. Tage ab bei Brustnahrung in der Norm auf niedrige Werte (30—40 mg) zu sinken[7]). Durch jede purinhaltige Nahrung wird die Harnsäureausscheidung des Menschen erhöht. Kaffee und Cacao haben aber einen kaum merklichen Einfluss auf die Harnsäureausscheidung des Menschen. Steigernd wirken auf die Harnsäureausscheidung des Menschen: Pilokarpin, Glycerin, die Phosphorvergiftung, die Radiumemanation, das Thorium-X und insbesondere das Atophan; herabsetzend: Atropin, Chinin und insbesondere das Calciumchlorid. Die Zufuhr von Alkalien und von Hippursäurebildnern ist unwirksam. (Die Literatur zu diesen Angaben und weitere s. S. 914.)

Bei allen anderen Säugetieren, ausser dem Menschen und dem anthropoiden Affen, nimmt die Harnsäure im Harn neben dem Allantoin eine ganz untergeordnete Stellung ein. Alle die Stoffwechseleinflüsse,

[1]) Magnus-Levy, Berliner klin. Wochenschr. 33. 389. 416. 1896. — Petren, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 41. 265. 1898. — Brugsch, Med. Kl. 1906. 294. — Brugsch und Schittenhelm, Zeitschr. f. exp. Path. u. Therap. 4. 444. 1907.
[2]) S. 913.
[3]) Weintraut, Wiener klin. Rundschau. 1906. Nr. 1. — Bloch, D. Arch. f. klin. Med. 83. 517. 1905. — Vgl. auch v. Jaksch, Vorkommen von Harnsäure und Xanthinbasen im Blute. Berlin 1891.
[4]) G. Galdi und Appiani, Rif. med. 20. 1373. 1904.
[5]) Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther. 4. 438. 480. 1907.
[6]) Kennaway s. S. 911.
[7]) A. Niemann, Jahrb. f. Kinderheilk. 71. 216. 1910.

Digitized by Google

welche die Harnsäureausscheidung des Menschen verändern, lassen daher die Harnsäureausscheidung der übrigen Säugetiere ganz unbeeinflusst

Soweit die Physiologie, Pathologie und Pharmakologie des Purinstoffwechsels die Ausscheidung der Harnsäure beim Menschen beeinflussen, ist oben (S. 913 ff.) alles gesagt, hier ist nur noch auf jene Momente einzugehen, welche die Ausscheidbarkeit der Harnsäure als solcher beherrschen. Die Harnsäure ist im Organismus fast vollständig als Monourat vorhanden. Eine andere Form ist bei der aktuellen Reaktion des Organismus unmöglich (Gudzent[1]). Die Vermutung von Minkowski[2]), dass die Harnsäure in einer organischen Verbindung, etwa mit Nukleinsäure, kreise, haben der Nachprüfung nicht standgehalten[3]). Das Monourat wird von den Stätten seiner Bildung ins Blut und aus diesem in die Nieren ausgeschieden, wobei seine Schwerlöslichkeit von Einfluss sein wird. Es muss mit der Möglichkeit gerechnet werden, dass das Urat in den Geweben zurückgehalten wird (gestaut, deponiert) nach Art der Wasser- oder Chlordeponierung in der Muskulatur und Haut, ohne dass es zu umschriebenen Ablagerungen festen Salzes, wie sie in den gichtischen Tophis vorliegen, kommt. Ja manche Erfahrungen der jüngsten Zeit legen sogar die Möglichkeit nahe, dass der menschliche Organismus auf eine vielleicht individuell verschiedene und durch Krankheit und Pharmaka verschiebbare Konzentration seiner Säfte an Harnsäure eingestellt sei. Wovon im einzelnen die physiologische Zurückhaltung eines Teils der gebildeten Harnsäure abhängig ist, weiss man nicht, dass sie aber stattfindet, scheint ziemlich sicher zu sein. Die Erfahrungen, die man beim Studium der Atophanwirkung gemacht hat, lassen sich anders kaum erklären. An beiden Punkten der Ausscheidung, der Ausscheidung ins Blut und der Ausscheidung in die Niere, können pathologische Zustände und Pharmaka angreifen. Die Ausscheidung in den Harn selbst erfolgt wahrscheinlich durch einen echten Sekretionsvorgang in den Tubulis und ist möglicherweise einer isolierten Beeinflussung oder Schädigung bei sonst in nichts geänderter oder gestörter Funktion des Organs zugänglich. Bei der Ausscheidung in den Harn erleidet der Zustand der Harnsäure insofern eine Änderung, als die Niere aus dem Blute eine Flüssigkeit von höherer Acidität bildet, und es wird von dem wahren Grade dieser Acidität und der Stärke der Harnsäure abhängen, wieviel von der ausgeschiedenen Harnsäure als Urat und wieviel als freie Säure im Harn zugegen ist. Die Beschleunigung der Harnsekretion durch Wassertrinken oder durch

[1]) Deutsche med. Wochenschr. **21**. 1909; Zeitschr. f. ph. Ch. **63**. 1909.
[2]) Die Gicht, Wien 1903, A. Hölder.
[3]) Schittenhelm, Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. **7**. S. 110. — Brugsch, ebenda, **6**. 287. 1909.

Diuretica wirkt nicht auf die Harnsäureausscheidung des Menschen. Dagegen wirken das Atophan und, zum Teil wenigstens, die Salicylsäure so. Vielleicht auch die radioaktiven Substanzen, obwohl deren Hauptwirkung sicherlich in einer erhöhten Harnsäurebildung infolge der durch sie bedingten Leukocytose besteht. Alkohol wirkt vielleicht hemmend auf die Ausscheidung (s. S. 914). Die Alkalien sind unwirksam. Übrigens ist es weiteren Untersuchungen vorbehalten zu entscheiden, inwiefern die oben angegebenen Wirkungen anderer Substanzen auf einer Beeinflussung des Stoffwechsels oder der Ausscheidung als solcher beruhen. — An welchem Punkte der Ausscheidung die genannten Mittel angreifen, ist noch nicht mit Sicherheit ermittelt. Das Atophan scheint an der Niere anzugreifen, da auf der Höhe seiner Wirkung die Blutharnsäure nicht vermehrt ist[1]). Entzündliche Schädigungen der Niere bei der Nephritis setzen sehr bald das Ausscheidungsvermögen der Niere für Harnsäure herab. Dass die im Organismus zurückgehaltene Harnsäure ihrerseits pharmakologische Wirkungen hervorzubringen vermag, sei hier nur nebenbei erwähnt. (Wirkungen auf die Muskulatur, das Herz, das Vasomotorenzentrum und die peripheren Gefässe, auf die Niere selbst. Bei Kaninchen erweist sich die Harnsäure, trotzdem sie weitgehend zerstört wird, als Nierengift, sie erzeugt Albuminurie.)

Mit einer pathologisch besonders gesteigerten Retention von Harnsäure im Körper hat man es bei der Gicht zu tun. Bei derselben findet man bei meist etwas verminderter Ausscheidung[2]) einen vermehrten Harnsäuregehalt des Blutes[3]). Doch bildet das Vorhandensein von Harnsäure im Blute bei purinfreier Kost an sich kein Zeichen von Gicht, sondern ist, wie wir gefunden haben, normal. Ferner ist die exogene Purinausscheidung vermindert und verschleppt[4]) und schliesslich kommt es zu Ablagerungen von festem Monourat an verschiedenen Stellen des Körpers, insbesondere in den Gelenks- und anderen Knorpeln und unter der Haut. Brugsch und Schittenhelm charakterisieren die echte „Stoffwechselgicht“ durch verlangsamte Bildung, verlangsamte Zersetzung und verlangsamte Ausscheidung der Harnsäure bei Ausschluss jeder renalen Retention und trennen sie von der Retentionsgicht (Bleigicht), für deren Zustandekommen eine renale Komponente als bedeutungsvoll herangezogen wird. Nach dem, was oben über die Zerstörbarkeit der Harnsäure im Menschen gesagt worden ist, kann ich diese Theorie in dem Punkte, wo sie auf eine in der

[1]) Deutsch, vgl. dagegen: Dohrn, Zeitschr. f. kl. Med. **74.** Heft 5/6. 1912. und Retsloff, Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. **12.** S. 307.

[2]) a) Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. **4.** Mehrere Mitteil. 1907.

[3]) Garrod, Researches on gout. Medico-chir. Trancac. **25.** 83. 1848. **37.** 49. 1854; deutsch von Eisenmann, Würzburg 1861. — Klemperer, Deutsch. med. Wochenschr. **21.** 655. 1895. — Magnus-Levy, Berliner klin. Wochenschr. **33.** 389. 416. 1896. — Brugsch und Schittenhelm, Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. **4.** l. c. 1907. — Salecker, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **95.** 353. 1909.

[4]) Brugsch und Schittenhelm, Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. **4.** l. c. 1907.

Digitized by Google

Norm vorhandene, beim Gichtiker aber herabgesetzte, Harnsäurezerstörung Bezug nimmt, nicht anerkennen, da nach meiner Überzeugung kein Beweis für, aber sehr zahlreiche gegen die Fähigkeit des Menschen, Harnsäure zu zersetzen, beigebracht worden sind. Alle Erscheinungen scheinen befriedigend durch Retention der Harnsäure ohne Annahme einer Störung des Purinstoffwechsels erklärlich zu sein. Dass diese Retention zu einem Teil wenigstens durch das Verhalten der Niere bedingt ist, dafür spricht die Vermehrung der Harnsäure im Blute und die Verminderung im Harn. Die Ablagerung des Urats wird durch seine Schwerlöslichkeit sehr begünstigt. Nach Gudzents Berechnung enthält das Blut des Gichtikers manchmal so viel Urat, dass es als eine übersättigte Lösung der schwer löslichen Laktimform des Mononatriumsalzes anzusehen ist[1]). Ist Monourat einmal in fester Form abgeschieden, so verhindert seine Schwerlöslichkeit erst recht die Beseitigung der Ablagerungen. Selbst bei Tieren mit lebhafter Harnsäureoxydation wird Urat nach reichlicher Beibringung von gelöstem Salz abgelagert und in Aufschwemmung injiziertes festes Salz (künstlicher Tophus) bleibt sehr lange Zeit unverändert liegen (Kaninchen). Dass die Zufuhr von Alkalien, Lithiumsalzen und anderen Stoffen, welche Harnsäure im Glase leicht lösen oder sich mit dem Natriumurat zu leichter löslichen Salzen umsetzen sollen, auf die Resorption und Entfernung der Uratdepots des Körpers unmittelbar keinen Einfluss haben kann, ist von His und Paul sowie von Gudzent nachgewiesen worden (vgl. hierüber die ausgezeichnete Darstellung in Höbers Physikalischer Chemie der Zelle und Gewebe, II. Auflage, Seite 119). Gewisse Gewebe scheinen eine besondere Veranlagung für die Bildung von Ablagerungen festen Urats zu haben. Das hängt möglicherweise mit ihrem besonderen Reichtum an frei gelösten Natriumsalzen zusammen. Das an sich schon schwer lösliche Natriumurat wird infolge Anwesenheit von anderen gelösten Natriumsalzen noch weit schwerer löslich. So imbibiert sich gelöstes Natriumurat in in die Lösung gebrachte Knorpelstücke und fällt im Innern derselben kristallinisch aus. Auch ein Teil der Kaninchen intraperitoneal einverleibten Harnsäure wird im Knorpel abgelagert (Almagia[2]). Anders als festes Urat verhält sich injizierte feste Harnsäure. Beim Kaninchen entstehen darnach Uratablagerungen, beim Hunde nicht. Die Harnsäure wird zunächst leicht gelöst und fällt dann als Natriumurat aus. Ebenso ist die Lösung der Harnsäure im Serum, in menschlicher Hydrokelenflüssigkeit, ja in alkalischen, natriumhaltigen, wässerigen Lösungen von einem

[1]) Gudzent, Zeitschr. f. phys. Chem. **63**. 453. 1909. — Ziegler, 16. intern. med. Kongr. Budapest 1909. — Bechhold und Ziegler, Bioch. Z. **20**. 189. 1909.

[2]) Almagia, Hofmeisters Beitr. z. ch. Phys. u. Path. **7**. 466. 1905. — Brugsch u. Citron, Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. **5**. 401. 1908.

Digitized by Google

Ausfallen von Natriumurat gefolgt (Ziegler). Die Bildung von Uratablagerungen nach Injektion von fester Harnsäure beim Kaninchen kann man durch Salzsäurezufuhr verhindern, beim Hunde durch Zufuhr von Alkalien hervorrufen [1]). Diese Erfahrungen werden erklärlich, wenn angenommen werden kann, dass die Zufuhr von Säure einen Natriumverlust des Organismus zur Folge hat, was in der Tat der Fall ist [2]). Je reicher ein Organismus an freigelösten Natriumsalzen ist, um so mehr muss er zur Ablagerung von Natriumurat neigen. Entfernt man den Natriumüberschuss, so muss diese Neigung zurückgehen. In diesem Sinne ist es nun auch nicht ausgeschlossen, dass die Zufuhr von viel Lithium- oder Kaliumsalzen dem Ausfallen von Natriumurat in den Geweben indirekt entgegen wirkt, indem sie wahrscheinlich die Ausscheidung von Natrium aus dem Körper befördert. Die Erfahrungen der letzten Zeit sprechen dafür, dass sich die einzelnen Kationen im Körper bis zu einem gewissen Grade vertreten wie die Anionen (z. B. Cl und Br). Reichliche Zufuhr des einen bewirkt möglicherweise eine Stapelung auf Kosten des anderen, welches ausgeschieden wird. Wenn man bedenkt, dass die seit langem bekannte, in der Norm und in vielen pathologischen Fällen vorkommende Chlorretention höchstwahrscheinlich von einer äquivalenten Natriumretention begleitet ist, so wird die Bildung von Natriumuratablagerungen im allgemeinen verständlich und unter dem Gesichtspunkte der erwähnten Vertretbarkeit der Kationen auch die bisher kaum erklärliche Wirkung gewisser Mineralwassertrinkkuren. Dass das Glycocoll etwas mit der Ausbildung der gichtischen Ablagerungen zu tun habe, wie Kionka vermutet hat, ist schon aus dem Grunde unwahrscheinlich, weil es sich niemals um die Ablagerung von Harnsäure, sondern um die von Natriumurat handelt [3]). Im übrigen ist die experimentelle Pathologie und Pharmakologie sowohl der Harnsäureausscheidung als solcher, als der Ablagerungen von festem Natriumurat kaum bearbeitet, was erklärlich ist, wenn man bedenkt, dass die meisten anzustellenden Versuche nur am Menschen gemacht werden können, da unsere Laboratoriumstiere die in ihnen entstehende und ihnen beigebrachte Harnsäure zerstören, und die erste Vorfrage, ob ein Eingriff den Purin*stoffwechsel* oder die Harnsäure*ausscheidung* beim Menschen beeinflusst, direkt kaum anders als durch Blutuntersuchungen beim Menschen zu beantworten ist, zu der man selbst bei hoch ausgebildeter Technik wird grössere Quantitäten Blut nicht entbehren können. Allerdings

[1]) J. van Loghem, Ann. de l'inst. Pasteur. 18. 468. 1904. Arch. f. klin. Med. 85. 416. 1907; Zentralbl. f. d. ges. Phys. u. Path. d. Stoffw. 8. 244. 1907. — Vgl. auch Cohen, Berliner klin. Wochenschr. 1912. Nr. 12.

[2]) Luithlen, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 68. S. 209. 1912.

[3]) E. Frey, Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. 2. 36. 1905.

Digitized by Google

kann man auf indirektem Wege im Tierexperiment erfahren, ob ein Eingriff auf den Purinstoffwechsel wirkt oder nicht: durch die Beobachtung der Allantoinausscheidung, welche sich mit der Veränderung des Purinstoffwechsels ebenfalls verändern muss. In dieser Beziehung hat z. B. das Studium der Atophanwirkung am Tiere ergeben, dass das Atophan keine oder eine herabsetzende Wirkung auf den Purinstoffwechsel hat (Starkenstein, unveröffentlicht). Bewirkt es also beim Menschen eine Harnsäurevermehrung, so kann diese nur durch eine gesteigerte Ausscheidung hervorgerufen sein.

Soviel wäre über die Physiologie, Pathologie und Pharmakologie der Harnsäureausscheidung als solcher zu sagen. Das Verhalten der Harnsäure im Harn, welches gelegentlich zur Bildung von Konkrementen in den Harnwegen führt (harnsaure Diathese, Harnsäureinfarkt), findet unten bei der Besprechung der Löslichkeit der Harnsäure im Harn Erwähnung.

Eigenschaften: 1. Die reine Harnsäure bildet ein weisses, leichtes, sich zart anfühlendes Pulver, welches aus mikroskopischen, rhombischen, durchsichtigen Täfelchen besteht.

Ganz reine Harnsäure kann nach Behrend und Roosen[1]) auch in rechtwinkeligen Täfelchen krystallisieren. Sie tut das nach meinen Erfahrungen auch regelmässig. Eine solche reinste Harnsäure zu gewinnen, gelingt nur durch Zerlegen eines reinen Salzes durch Mineralsäure. Beim Lösen in Schwefelsäure und Fällen durch Wasser oder beim Lösen in Alkali und Fällen durch Säure werden die die Krystallform beeinflussenden Farbstoffe stets von der ausfallenden Harnsäure adsorbiert und man gelangt nie zu einem in rechtwinkeligen Tafeln krystallisierenden Produkt. Stellt man jedoch Urate in der Wärme her, so bleiben die Farbstoffe, nachdem Ausfallen des Urats beim Abkühlen in den Mutterlaugen gelöst und die Salze liefern nach dem Waschen mit Wasser, durch Säure zerlegt, stets das erwähnte Produkt. Ob sich zu der beschriebenen Reinigung alle Urate gleich eignen, weiss ich nicht, ich habe stets nur mit dem Natriumurat gearbeitet.

An der unreinen Harnsäure, wie sie sich aus Harn abscheidet, sind die stumpfen Winkel der rhombischen Täfelchen abgerundet, so dass die Krystalle die Gestalt von kurzen, dicken Wetzsteinen annehmen (Taf. III. Fig. 1/2); auf den gekrümmten Seiten liegende Krystalle erscheinen als rechtwinklige Prismen. Öfter sind zwei solcher Krystalle unter rechtem Winkel durchwachsen oder lagern sich mehrere in gleicher Weise mit ihren breitesten Partien rosettenartig übereinander. Nicht selten legen sich solche wetzsteinförmige Krystalle mit ihren planen Seiten in der Weise aneinander, dass sich in der Mitte der Reihe der grösste Krystall befindet, während sich nach den Seiten immer kleinere anfügen, so dass das Aggregat einer Tonne nicht unähnlich erscheint. Es kommt auch vor, dass Harnsäurekrystalle sehr lang gestreckt, den Krystallen der Hippursäure einigermassen ähnlich sind; sie weisen dann aber meist keine scharfe Begrenzung auf. Aus zuckerhaltigem Harn scheidet sich die Harnsäure nach Venables oft in langen, sechsseitigen Täfelchen aus.

Harnsäurekrystalle adsorbieren Farbstoffe und färben sich daher, wenn sie sich in farbstoffhaltigen Lösungen bilden. Der Krystallhabitus wird durch diese Adsorption geändert. Die Adsorption entspricht dem bekannten Exponentialgesetz. Nicht alle Farbstoffe werden adsorbiert. Von den untersuchten Farben färbten Methylviolett, Methylenblau, Patentblau und Bismarkbraun. Ponceaurot

[1]) Ann. d. Ch. u. Ph. 251. 250. 1889.

Digitized by Google

und Chinolingelb färbten nicht. Aus methylenblauhaltigen Lösungen, ebenso wie aus methylvioletthaltigen, krystallisiert die Harnsäure in gestreckten Bipyramiden, und aus Lösungen, die Bismarckbraun enthalten, in grossen, treppenförmigen, fast häutchendünnen Krsytallen [1]). Die aus saurem Harn spontan oder nach Ansäuern aus Harn ausfallende Harnsäure ist immer gefärbt. Die Farbe der spontanen Sedimente ist lehmgelb bis lebhaft rosenrot.

Die Farbe der schmutziggelben Sedimente rührt von Urochrom und von Urobilin her, von welchen das Urochrom chemisch gebunden ist, das Urobilin sich auswaschen lässt. Die roten enthalten Uroerythrin, welches sie an heissen Amylalkohol abgeben, ihre Lösung in heissem Wasser zeigt das Uroerythrin-Spektrum. Natron- oder Kalilauge verwandelt ihre Farbe in grün. Wiederholt hat Garrod im Uratsediment auch metallisches Hämatoporphyrin angetroffen. Phenol entzieht den Uratsedimenten keinen Farbstoff (Kramm [2]). Bei Icterus kommt Gallenfarbstoff, in Karbolharn schwarzbrauner Farbstoff in ihnen vor.

Nach den Untersuchungen von Garrod [3]) rührt die gelbe bis braune Farbe der spontan entstandenen wetzsteinförmigen Harnsäure von Urochrom her; Urobilin ist in ihnen nicht enthalten. Aus uroerythrinreichen Lösungen (Harn) abgeschiedene Harnsäure bildet zartrote oder orangefarbene, meist unregelmässig prismatische, auch in Rosetten und Kreuzen angeordnete Krystalle; in Masse sehen die Krystalle schön rot aus. Die Grundfarbe der Westzsteinformen ist immer durch das Urochrom bedingt. Meist enthalten solche Krystalle, die sich spontan schnell ausgeschieden haben, auch Uroerythrin. Bloss urochromhaltige Krystalle kommen vor, bloss uroerythrinhaltige nicht.

Die Krystalle aus bilirubinreichem Harn erscheinen in Masse rötlich braun, einzeln orange, die aus biliverdinreichem Harn in Masse lederbraun, einzeln grünlich; sie bilden oft Rosetten prismatischer Krystalle. Die in Karbolharn entstandenen Krystalle sind tiefbraun und fast undurchsichtig, in Masse vollkommen schwarz. Blut und die Indigfarbstoffe beteiligen sich nicht an der Färbung der spontan entstandenen Harnsäure.

Die mit Säuren ausgefällte Harnsäure verdankt ihre rötlich braune Farbe höchst wahrscheinlich grossenteils den schwarzen Zersetzungsprodukten des Urochroms (Uromelanin von Thudichum); manchmal sind sie, wie bereits Heller beobachtete, von Indigblau und Indigrot gefärbt. Wenn das Eisen, welches Kunkel in Harnsäure fand, die mit Salzsäure gefällt war, wirklich einem Farbstoff angehört, so ist das keiner der hier erwähnten.

In der Kälte aus alkalischer Lösung durch Salzsäure gefällte Harnsäure enthält nach Fritzsche stets 2 Mol. Krystallwasser, welches die Krystalle schon in geringer Wärme, im Vakuum oder in heissem Wasser abgeben. Der Niederschlag bildet anfangs eine Gallerte, und auch diese ist nach Matignon [3]) ein Hydrat.

Die namentlich aus verdünnten Uratlösungen durch Salzsäure in der Kälte ausfallende Harnsäure bildet fast immer durchsichtige Krystalle, welche beim Erwärmen in ihrer Mutterlauge auf dem Wasserbade rasch opak werden. Die durchsichtigen Krystalle stellen offenbar die krystallwasserhaltige Form der Harnsäure dar. Dieses Verhalten trifft man auch bei einigen Purinbasen an (S. —0).

---

[1]) R. Marc, Zeitschr. f. physikal. Chem. 75. 710. 1911.

[2]) W. Kramm, Deutsche med. Wochenschr. 1896. 44.

[3]) A. E. Garrod, Proc. of the Roy. Society 55. 404. 1894; Journ. of Path. and Bacteriol. Novbr. 1894. 100.

[4]) J. Fritzsche, Journ. f. prakt. Ch. 17. 56. 1839. — E. Matignon, Bull. de la Soc. chim. [3[11. 571. 1894.

Digitized by Google

Die Harnsäure schmilzt nicht. Über das Spektrum ihrer Lösungen vgl. W. Noel Hartley[1]).

2. Die physikalisch-chemischen Konstanten der Harnsäure.

Konstanten	bei 18[2])	bei 37[3])
Löslichkeit	1 : 39 480	1 : 15 505
1 L der gesättigten Lösung enthält	0,0253	0,0649
1 Mol. Harnsäure löst sich in v = ...	6640 l	2609 l
spez. Leitfähigkeit der gesättigten Lösung (Verdünnung v L) = k ohne Abzug der spez. Leitfähigkeit des Lösungs-Wassers	$5{,}91 \cdot 10^{-6}$	$1{,}6 \cdot 10^{-5}$
nach Abzug der spez. Leitfähigkeit des Lösungs-Wassers	$4{,}85 \cdot 10^{-6}$	$1{,}3 \cdot 10^{-5}$
Molekulare Leitfähigkeit der gesättigten Lösung = k . 1000 v = m ohne Abzug der Leitfähigkeit des Lösungs-Wassers	39,28	41,74
nach Abzug der Leitfähigkeit des Lösungs-Wassers	32,24	33,92
bei unendlicher Verdünnung = m_∞	339	
Dissoziationsgrad, $a = m_v / m_\infty$ ohne Abzug der Leitfähigkeit des Lösungs-Wassers	0,116	0,092
mit Abzug der Leitfähigkeit des Lösungs-Wassers	0,095	0,075
Dissoziationskonstante, $m_v^2 / m_\infty \cdot (m_\infty - m_v)\, v = k$ ohne Abzug der Leitfähigkeit des Lösungs-Wassers	$2{,}29 \cdot 10^{-6}$	$3{,}58 \cdot 10^{-6}$
nach Abzug der Leitfähigkeit des Lösungs-Wassers	$1{,}51 \cdot 10^{-6}$	$2{,}33 \cdot 10^{-6}$
Wanderungsgeschwindigkeit des primären Harnsäure-Ions	21	38
Lösungswärme	— 8954 cal pro Mol[3])	

Die Löslichkeitskurve der Harnsäure in Wasser wird nach Blarez und Denigès[4]) ausgedrückt durch:

$$x = 2 + 0{,}15\,t + 0{,}0\,020\,t^2 + 0{,}000\,025\,t^3,$$

worin x = mg Harnäsure in 100 g Wasser und t = die jeweilige Temperatur.

Die früheren Angaben über die Löslichkeit sind sehr schwankend und unverlässlich, da sie, wie His und Paul (l. c.) nachgewiesen haben, auf Grund von unzulänglichen Methoden gemacht sind. Schon geringe Verunreinigungen, wie Kohlensäure u. a. beeinflussen die Löslichkeit der Harnsäure in Wasser. Andererseits ist die Harnsäure in wässeriger Lösung ziemlich leicht zersetzlich und diese Zersetzlichkeit wird durch Spuren von Alkali, wie sie aus dem Glase der Gefässe in die Lösung, namentlich beim Erwärmen übergehen, und durch längeres Erwärmen überhaupt, wie es beim Eindampfen der Lösungen notwendig ist, erheblich gesteigert. Versuche über die Löslichkeit der Harnsäure können daher nur dann verlässliche Resultate geben, wenn sie in ausgedämpften Hartglasgefässen mit Leitfähigkeitswasser angestellt werden und das in Lösung Gegangene nicht durch

1) Proc. ch. soc. **21**. 166. 1905.
2) W. His und Th. Pauly, Zeitschr. f. ph. Ch. **31**. 1. 1900.
3) F. Gudzent, Zeitschr. f. ph. Ch. **60**. 25. 1909.
4) Blarez und Denigès, Comptes rendus **104**. 1847. 1887.

Digitized by Google

Eindampfen der Lösung zur Trockne, sondern durch Zurückwägen des Ungelösten bestimmt wird. Beim Schütteln von feinverteilter Harnsäure mit Wasser ist die Löslichkeitsgrenze in einer Stunde erreicht. In einer gesättigten wässerigen Lösung sind nach der obigen Zusammenstellung bei 18° 11,6 % bzw. 9,5 % der gelösten Harnsäure in Wasserstoffionen und primäre Harnsäureionen dissoziiert. In einem Liter gesättigter Lösung beträgt die Konzentration dieser Ionen je $1{,}75 . 10^{-5}$ Mol bzw. $1{,}43 . 10^{-5}$ Mol und die Konzentration der undissoziierten Harnsäure $1{,}331 . 10^{-4}$ bzw. $1{,}363 . 10^{-4}$ Mol.

Alle gemachten Messungen stimmen damit überein, dass die Harnsäure in wässeriger Lösung nur ein H-Ion abdissoziieren kann, dass sie eine einbasische Säure ist. Sie lässt sich auch als solche titrieren, schärfer nach Zusatz von Formol[1]). Ihre niedrige Dissoziationskonstante kennzeichnet sie als schwache Säure. Nach der Stärke nimmt die Harnsäure unter einigen im Organismus wichtigen Säuren folgende Stellung ein:

Harnsäure $C_5H_3N_4O_3$-H $= 1{,}5 . 10^{-6}$
Primäres Phosphat $NaHPO_4$-H $= 2 . 10^{-7}$
Kohlensäure HCO_3-H $= 3{,}04 . 10^{-7}$.

Die Harnsäure ist also eine stärkere Säure als die Kohlensäure und das primäre Phosphat, sie wird daher aus Bicarbonaten die Kohlensäure und aus den einfachsauren Phosphaten das zweifachsauere Phosphat unter Bildung von Biurat verdrängen. Daher ist die Harnsäure zunächst im Serum leichter löslich als in Wasser; unter Verdrängung der Kohlensäure des Bicarbonats bildet sich Biurat, bei längerem Kontakt fällt dann ein Teil des Biurats infolge der Anwesenheit von viel Na aus (s. w. u.)[2]). Das nachträgliche Ausfallen wird durch K, Li und Mg-Salze und Ra-Emanation gehemmt[3]). Gleichwohl kann man durch Einleiten von Kohlensäure in eine Aufschwemmung von primärem harnsaurem Salz Harnsäure abscheiden. Dieses Verhalten hängt mit der sehr verschiedenen Löslichkeit der beiden Säuren in Wasser zusammen. 1 Mol. Harnsäure löst sich in 6636 Liter, 1 Mol. Kohlensäure in 44 Liter. In einer gesättigten Kohlensäurelösung ist demnach die H-Ionen-Konzentration weit grösser als in einer gesättigten Harnsäurelösung. Dadurch, sowie durch die im Überschuss vorhandenen Urat-Ionen wird die Dissoziation der Harnsäure soweit zurückgedrängt, dass das Löslichkeitsprodukt der Harnsäure überschritten wird und sie ausfallen muss[4]). In gleicher Weise wird auch ein grosser Überschuss von zweifachsaurem Phosphat wirken, wie wohl dieses auch eine schwächere Säure als Harnsäure ist.

Ein Zusatz von Säure zu wässeriger Harnsäurelösung bedingt infolge der Zunahme der H-Ionen-Konzentration eine Zurückdrängung der Harnsäuredissoziation und damit eine Verminderung der Löslichkeit. Die früher verbreitete Ansicht, dass die Harnsäure in wässerigen Lösungen starker Säuren löslicher sei als in Wasser (z. B. in Salzsäure, Rüdel[5])), ist irrtümlich (His und Paul[6])). Für eine n/100

[1]) Sörensen, Bioch. Zeitschr. 7. 99. 1908.
[2]) A. E. Taylor, Journ. of biol. ch. 1. 177. 1906. — H. Trenkner, Z. f. i. M. 25. 1121. 1904.
[3]) Ziegler, 16. int. med. Kongr. Budapest 1909. — Bechold und Ziegler, Biochem. Zeitschr. 20. 189. 1909.
[4]) His und Paul, l. c.
[5]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 30. 469. 1892.
[6]) Zeitschr. f. ph. Ch. 31. 1. 65. 1900.

Digitized by Google

Säure beträgt die Löslichkeit bei 18° nur mehr 1:43620. Bei einer 6n Schwefelsäure sinkt die Löslichkeit sogar (wohl infolge des Einflusses der Schwefelsäure als Lösungsmittel) auf 1:54890 (Gudzent[1]). Die Harnsäure ist also zum Unterschiede von den Purinbasen kein amphoterer Elektrolyt, sie kann bei Anwesenheit starker Säuren keine OH-Ionen abdissoziieren. Infolge dieser Verhältnisse wird Harnsäure aus ihren Lösungen durch starke Säuren auch Essigsäure sehr vollständig gefällt. Doch ist die Fällbarkeit gewissen Hemmungen unterworfen. Insbesondere hemmend wirkt die Gegenwart von Nucleinsäure[2]). Befördert wird die Abscheidung, wenn (krystallisierte Harnsäure zugesetzt und) die Flüssigkeit rotiert wird, wodurch die Übersättigung aufgehoben wird[3]).

Weit besser als in Wasser ist die Harnsäure löslich in warmer konzentrierter Schwefelsäure (Wetzlar[4])), in warmem Glycerin[5]), in Milch- und Essigsäure, sowie in Harnstoff. In allen diesen Fällen dürfte es sich, wie für die Schwefelsäure bewiesen (s. u.), für den Harnstoff sehr wahrscheinlich nicht um eine echte Lösung, sondern um die Bildung leicht löslicher Verbindungen handeln. Auch die Purinbasen kommen möglicherweise als löslichkeitsvermehrend in Betracht. Aus der Lösung in warmem Glycerin scheidet sich beim Stehen die Harnsäure zum Teil in würfelförmigen Krystallen wieder ab[5]) (unverändert als solche?). Unreine, aus Harn gefällte Harnsäure ist wenigstens scheinbar leichter löslich als reine Harnsäure. In Alkohol und Äther ist die Harnsäure unlöslich.

3. Verbindungen. a) Mit Basen. Die Urate.

Die Harnsäure verhält sich in wässeriger Lösung als einbasische Säure. Dementsprechend existieren in wässeriger Lösung nur primäre, einfachsaure Salze (Biurate). Bei Anwesenheit von starken Basen ist die Harnsäure imstande, unter Bildung sekundärer Harnsäure-Anionen noch ein zweites H-Ion abzudissoziieren und dann sekundäre (neutrale) Urate zu bilden. Diese sind aber nur in festem Zustande bzw. nur bei Anwesenheit von viel Lauge beständig. Durch Wasser werden sie sofort zu primärem Salz und Lauge zersetzt, durch Kohlensäure zu primärem Salz und Carbonat. Dies kommt daher, dass das sekundäre Harnsäure-Anion sich mit den H-Ionen des Wassers sofort zu dem kaum dissoziierten

[1]) Zentralbl. f. d. ges. Phys. u. Path. d. Stoffwechsels. 1910. Nr. 8.
[2]) Minkowski, Motonosuke Goto, Zeitschr. f. ch. Ch. **30**. 473.
[3]) His und Paul, l. c.
[4]) Beiträge zur Kenntnis des menschlichen Harns. 1821. 67.
[5]) Colasanti, Moleschotts Untersuchungen. **13**. Zeitschr. f. analyt. Ch. **22**. 625.

Digitized by Google

primären Harnsäure-Anion verbindet. Es bleiben dann Salzkationen und OH-Ionen in der Lösung zurück (hydrolytische Dissoziation). Wenn aber die Dissoziation des Wassers durch viel Metallhydroxyd zurückgedrängt wird, so sind die sekundären Harnsäure-Anionen beständig — wegen Mangels verfügbarer H-Ionen — und die sekundären Salze können sich bilden. Eine Löslichkeit sekundärer Urate in Wasser gibt es also nicht, und die früheren Angaben über eine solche[1]) beruhen auf Irrtum[2]). Die neutralen Urate können zwei verschiedene Basen zugleich enthalten. Scherer[3]) glaubte im Uratsediment des Harns noch eine dritte Art von Uraten gefunden zu haben, welche auf eine Metallvalenz zwei Harnsäuremoleküle enthalten, Verbindungen von je einem Molekül Biurat und Harnsäure darstellen (Quariurate, Tetraurate, dreifachsaure Urate). In dieser Form sollte die Harnsäure im Schlangen- und Vogelkot, sowie nach Flensburg[4]) im Harnsäure-Infarkt der neugeborenen Menschen vorliegen. Diese Salze sollten sich bei Berührung mit Wasser in Harnsäure und Biurat mit Alkalicarbonaten und einfachsaurem Phosphat in Biurat umsetzen. Sie sollten schwerer löslich sein als die entsprechenden Biurate. Das einzige geeignete Lösungsmittel wäre normaler Harn. Es sind aber auch Vorschriften gegeben worden zur Darstellung der Tetraurate in vitro.

Das Kalium- und das Natriumquadriurat lassen sich nach Roberts[5]) darstellen, wenn man eine Azetatlösung der betreffenden Basis (300 ccm 3 prozent. Kaliumacetat- oder 100 ccm einer 5 proz. Natriumacetatlösung) siedend heiss etwa eine Minute lang mit (2 g) Harnsäure schüttelt, heiss filtriert und das Filtrat abkühlt. Der Niederschlag wird erst mit rektifiziertem, dann mit absolutem Alkohol gewaschen und bei Blutwärme getrocknet. Lässt man das Filtrat im Wärmeschrank oder selbst im Zimmer erkalten, so treten radiär gestreifte Kugeln auf. Das Ammonquadriurat erhält man durch Kochen von 1 g Harnsäure mit 200 ccm Wasser, dem 1 ccm starke Ammoniakflüssigkeit zugesetzt ist, Abkühlen des Filtrats auf Eis und Einleiten von Kohlensäure bis zur Bildung eines voluminösen Niederschlags. Das Calciumsalz wird erhalten durch Lösen von 0,5 g Harnsäure in kaltem Kalkwasser und vorsichtiges Neutralisieren des Filtrats mit Essigsäure; das Magnesiumsalz durch zehn Minuten langes Digerieren von Harnsäure mit calcinierter Magnesia und Wasser bei Blutwärme. Quadriurat kann man nach Roberts auch darstellen, wenn man Harn mit Natrium- oder Kaliumbicarbonat schwach alkalisch macht oder besser mit 3 % Kaliumacetat versetzt zum Sieden erhitzt, eine Minute lang mit überschüssiger Harnsäure digeriert, heiss filtriert und das Filtrat abkühlt; war der Harn dabei zu schwach alkalisch, so kann Harnsäure mit ausfallen, war er zu stark alkalisch, Biurat.

Versetzt man eine kalt gesättigte Biuratlösung mit einer starken Lösung von zweifach saurem Phosphat oder mit $\frac{1}{3}$ Vol. saurem Harn mittlerer Konzentration, so fällt Quadriurat aus (Roberts[6])).

---

[1]) Allan und Bensch, Ann. d. Ch. u. Pharm. **65**. 194. 1848.

[2]) Höber, Physikal. Chemie der Zelle und Gewebe. II. Aufl. W. Engelmann, Leipzig 1906. — His und Paul, l. c.

[3]) Canstatts Jahresberichte. 1845. Phys. Ch. **156**. — Bence Jones, Journ. of the chem. soc. **15**. 201. 1862. Chem. Zentralbl. 1862. 372.

[4]) Nord. med. Arch. 1894; Jahrb. f. Tierch. 1893. 581.

[5]) Sir Roberts, a. a. O. 25 u. 17.

[6]) Roberts, a. a. O. 42.

Digitized by Google

Das Quadriurat bildet wie das Biurat ein gelatinöses Hydrat; sättigt man eine 5 proz. Lösung von einfach saurem Natriumphosphat in der Hitze mit Harnsäure, so scheidet sich aus dem Filtrat beim Erkalten dieses Hydrat amorph oder in weichen durchscheinenden Kugeln ab (Roberts[1]).

Die Zersetzung des Tetraurats durch Wasser lässt sich unter dem Mikroskop beobachten, wenn man das zugesetzte Wasser oft erneuert; es treten zuletzt Harnsäurekrystalle auf. — Löst man Quadriurat in der 1000 fachen Menge heissem Wasser, so fällt beim Erkalten die Hälfte der vorhandenen Harnsäure aus, die andere Hälfte bleibt als Biurat in Lösung (Roberts[2]).

Nach den Untersuchungen von Tunnicliffe und Rosenheim[3], sowie von Kohler[4]) existieren jedoch die Quadriurate als als Verbindungen nicht, sondern sind lediglich ein Gemisch von Harnsäure und Biurat. Schlagend ist der Beweis von Kohler, dass sich Harnsäure in Uratlösungen nicht besser löst als in Wasser (eigentlich sollte sie darin wegen der Anwesenheit von Harnsäure-Anionen schwerer löslich sein als in Wasser).

Es kommen also für die Verhältnisse in Lösungen und für den tierischen Organismus ausschliesslich die Biurate in Betracht.

Die einfach sauren Urate der fixen Alkalien erhält man durch Behandeln einer Lösung von Harnsäure in den Alkalihydraten mit Kohlensäure (Bensch) (auch Glycocoll fällt aus alkalischen Lösungen von Diurat Monourat, Harnstoff soll diese Fällung verzögern[5])) oder durch Auflösen von Harnsäure in einem Alkalicarbonat oder Alkalibicarbonat. Sie bilden sich auch mit phosphorsauren, borsauren und essigsauren Alkalien. Mit einfach saurem Phosphat entsteht zweifach saures und Biurat, die Lösung reagiert dementsprechend amphoter.

Die Biurate treten in zweierlei Formen auf, in der einer unbeständigen Gallert (als Hydrat, hydratische Form) und kristallisiert.

Aus der Lösung von Harnsäure in Alkalihydrat scheidet sich die Harnsäure beim Behandeln der Lösung mit Kohlensäure zunächst als Gallert ab, welche sich darauf in Drusen kleinerer Krystalle verwandelt (Bensch). Eine heiss gesättigte Lösung eines Alkalibiurats bleibt nach dem Erkalten lange Zeit klar; auf Zusatz des gleichen Volumens einer starken Alkalisalzlösung (20 proz. Chlornatrium, Natriumphosphat etc.) entsteht ein voluminöser, gallertiger Niederschlag, welcher später krystallinisch wird (Ord, Roberts). Behandelt man Quadriurat mit Wasser, so enthält die Lösung Biurat, welches sich durch Lösen von Kochsalz in der Lösung bis zur Sättigung gleichfalls als Gallert abscheidet. Auch ohne Fällungsmittel kann sich das Alkalibiurat aus gesättigten Lösungen allmählich gelatinös abscheiden (Roberts[6]); eine heiss gesättigte Lösung von Harnsäure in Lithiumcarbonat erstarrt beim Erkalten zu einer Gallert (Bensch). Das gelatinöse Biurat stellt sich unter einem Mikroskop entweder als amorphe Masse dar, oder in der Form weicher amorpher Kugeln. Es ist leichter löslich als das krystallisierte Biurat.

Das krystallisierte Alkalibiurat (auch das Ammonbiurat) bildet entweder Kugeln, kleine Krystalle, oder lockere, aus Prismen zusammengesetzte Drusen.

[1]) Roberts, a. a. O. 92.

[2]) Roberts, a. a. O. 18.

[3]) The Lancet 1900. 1708.

[4]) Zeitschr. f. ph. Ch. **72**. 169. 1911.

[5]) H. Kionka, Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. **2**. 1. 1905. — E. Frey, ebenda. **2**. 26. 1905.

[6]) W. M. Ord, On the Influence of Colloids upon Crystalline Form and Cohesion. London 1879. 72. — Sir W. Roberts, a. a. O. 90 u. 117.

Digitized by Google

Für die Gewinnung von gut krystallisierendem Mononatriumurat ist es von grösster Wichtigkeit, absolut reine Harnsäure zu verwenden. Nur eine solche liefert ein schön krystallisiertes, reines Produkt mit dem theoretischen Krystallwassergehalt, wenn man sie nach den Angaben von His und Paul bzw. Gudzent in der berechneten Menge n/10 Natronlauge bei 50° löst, vom ungelösten rasch abnutscht und die Lösung langsam erkalten lässt. Mit weniger reinen wenn auch analytisch einwandfreien Harnsäurepräparaten erhielten wir immer zunächst zwar scheinbar weisse, aber unter dem Mikroskope als aus bräunlichen Kugeln bestehend sich erweisende amorphe Produkte, welche den verschiedensten Versuchen, sie zur Krystallisation zu zwingen, widerstanden. Auch die allgemein geübte Reinigung der Harnsäure nach Horbaczewski (Lösen in konzentrierter Schwefelsäure und Eingiessen in Wasser) änderte bei solchen Präparaten nichts an dem Aussehen und Verhalten des aus ihnen gewonnenen Natriumurats. Wir [1]) haben nun gefunden, dass die die Krystallisation hemmenden Substanzen zum grössten Teile in den meist auch etwas gefärbten Mutterlaugen von dem zunächst erhaltenen amorphen Produkt gelöst bleiben. Wäscht man dieses mit Wasser alkalifrei, so erhält man nach dem Zersetzen mit Mineralsäure schon eine erheblich reinere Harnsäure, welche dem oben zitierten Verfahren unterworfen, meist ein Urat liefert, welches unter dem Mikroskope bereits eine Andeutung krystallinischer Struktur aufweist. Behandelt man dieses zweite Produkt wie das erste und das gewonnene dritte, eventuell vierte, ebenso, so gelangt man schliesslich, allerdings unter erheblichen Verlusten, aber mit Sicherheit zu einem sehr schönen Präparat, welches unter dem Mikroskop ausschliesslich tadellos gleichmässige, isolierte, nirgends agglomerierte, verhältnismässig grosse Nadeln zeigt, in Wasser suspendiert, prächtig szintilliert und nach dem Absaugen und Waschen eine seideglänzende, verfilzte, papierähnliche Masse darstellt. Manchmal muss man den gleichen Gang bis sechsmal wiederholen, bis man zu einem befriedigenden Resultat kommt [1]). Dabei macht man stets die Beobachtung, dass das Urat immer schwerer löslich wird, je reiner es wird. Man ist gezwungen, zum Lösen der solcher Art über das Urat gereinigten Harnsäure stärker verdünnte Lauge: n/15—n/20 zu verwenden, weil bei Anwendung von n/10-Lauge fast gleichzeitig mit der bei 50° erfolgenden Lösung der Harnsäure das Urat auszukrystallisieren beginnt, so dass man mit dem Filtrieren zu spät kommt oder die Filtration infolge der vorzeitig einsetzenden Krystallisation gestört wird. Die aus solchen schönen Präparaten durch Mineralsäure gewonnene reinste Harnsäure krystallisiert nicht mehr in rhombischen, sondern in rechtwinkeligen Täfelchen.

Die physikalisch-chemischen Konstanten der Biurate, des Ammoniums, Natriums und Kaliums hat Gudzent ermittelt [2]) (siehe die Tabelle). Die Löslichkeit nimmt beim dauernden Rotieren von überschüssigem Salze mit Wasser bei der gleichen Temperatur zunächst bis zu einem Maximum, dem Sättigungspunkt, zu. Dieser wurde von dem am schwersten löslichen Ammonsalz am schnellsten erreicht und von dem am besten löslichen Kaliumsalz am spätesten. Von diesem Punkte ab nimmt die Löslichkeit bei weiterem Rotieren allmählich mit abnehmender Geschwindigkeit ab und bleibt dann von der 140. Stunde an konstant.

Gudzent erklärt dieses Verhalten durch die Annahme zweier Reihen von primären Uraten, die sich sonst in nichts als durch die verschiedene Löslichkeit voneinander unterscheiden. Das leichter lösliche Salz ist unbeständig und geht vom Momente seiner Entstehung allmählich in das zweite, beständige, weniger lösliche über. Das un-

[1]) von Knaffl und Wiechowski, Zeitschr. f. phys. Ch. **77**. 303. 1912.
[2]) Zeitschr. f. ph. Ch. **56**. 150. 1908; **60**. 66. 1909.

Digitized by Google

	Löslichkeitsverhältnis	In 1 l Lösung sind enthalten	1 Mol löst sich in Liter	Spezifische Leitfähigkeit	Dissoziationsgrad	Molekulare Leitfähigkeit v = ∞	Wanderungsgeschwindigkeit des Kations	Wanderungsgeschwindigkeit des Anions	Mittlerer Wert für das Anion	Der Sättigungspunkt wird erreicht in Min.	In 1 l einer gesättigten Lösung ist	Es sind hydrolysiert %	Die Reaktion ist demnach
Lactam-Urat (unbeständig).													
18°													
Prim. harns. Kalium	1 : 477	2,097	99	0,000811	—	—	—	—	—	120	$C_{OH} = 6,5 \times 10^{-7}$	0,0064	Schwach alkalisch.
„ „ Natrium	1 : 846	1,182	176	0,000338	—	—	—	—	—	45	$= 4,9 \times 10^{-7}$	0,0009	Desgl.
„ „ Ammonium	1 : 2191	0,456	406	0,000195	—	—	—	—	—	15	$= 0,27 \times 10^{-7}$ $C_{Harnsäure} = 37,9 \times 10^{-7}$	0,15	Schwach sauer.
37°				berechnet									
Prim. harns. Kalium	1 : 266	3,7585	55	0,002217	—	—	—	—	—		—	—	Schwach alkalisch
„ „ Natrium	1 : 469	2,130	98	0,000980	—	—	—	—	—	15	—	—	Desgl.
„ „ Ammonium	1 : 1225	0,817	226	0,009561	—	—	—	—	—		—	—	Schwach sauer.
Lactim-Urat (beständig).													
18°													
Prim. harns. Kalium	1 : 716	1,3967	148	0,000540	0,948	84,1	63,8	20,3	21	120	$C_{OH} = 5,35 \times 10^{-7}$	0,0079	Schwach alkalisch.
„ „ Natrium	1 : 1270	0,7874	264	0,000225	0,956	63,6	43,3	20,3		45	$= 4,02 \times 10^{-7}$	0,001	Desgl.
„ „ Ammonium	1 : 3290	0,3039	609	0,000130	0,965	—	—	—	—	15	$= 0,27 \times 10^{-7}$ $C_{Harnsäure} = 25 \times 10^{-7}$	0,15	Schwach sauer
37°													
Prim. harns. Kalium	1 : 402	2,4844	83	0,001462	0,925	131,0	93,2	37,8			—	—	Schwach alkalisch.
„ „ Natrium	1 : 710	1,4085	148	0,000648	0,933	103,0	65,5	37,5	38,0	15	—	—	Desgl.
„ „ Ammonium	1 : 1848	0,5401	342	0,0003709	0,966	131,5	93,5	38,0			—	—	Schwach sauer.

beständige soll der Laktamform der Harnsäure (s. o. S. 1000, Formel I.), das beständige, schwerer lösliche der Laktimform der Harnsäure (Formel II.) zugehören. Bei der Darstellung der krystallisierten Alkalibiurate erhält man immer ein Gemisch beider Salze, des schwer löslichen, beständigen b- und des leichter löslichen, unbeständigen a-Salzes. Das a-Salz ist bei 18° um 33,4%, bei 37° um 33,9% löslicher als das b-Salz. Die oben mitgeteilten Beobachtungen über die beiden Formen der Alkalibiurate, insbesondere über die leichtere Löslichkeit der gelatinösen, besser gesagt, amorphen Modifikation haben wohl sicher Beziehungen zu den von Gudzent an krystallisierten Salzen gemachten Beobachtungen. Bei der Darstellung der krystallisierten Biurate nach dem oben beschriebenen Verfahren fällt immer auf, dass das Natriumurat deutlich schwerer löslich wird, je schöner sich die Krystalle ausbilden und je reiner (d. h. frei von amorphen Teilen) das Präparat wird.

Die leichtere Löslichkeit des bei der Bildung zunächst entstehenden amorphen Urats dürfte auch die Ursache dafür sein, dass nach Bechhold und Ziegler (Biochem. Zeitschr. **20**. S. 189. 1909) die Löslichkeit von Harnsäure im Serum um das 20 fache grösser ist als die vom Urat.

Die Lösungsverhältnisse des Natriumurats und seine Lösungen zeigen übrigens noch andere Eigentümlichkeiten, welche durch die Gudzentsche Annahme nicht erklärt werden, sondern eher für die Möglichkeit sprechen, dass die Urate auch kolloide Lösungen bilden können. So haben von Knaffel und Wiechowski beobachtet, dass die durch Erwärmen bedingte Erhöhung der Löslichkeit trotz Anwesenheit von Bodenkörper beim Erkalten und langem Stehen bestehen bleibt. (Vgl. dazu auch Schulz, biochem. Zeitschr. 48. 85. 1913.)

Die Hydrolyse der Biurate in wässeriger Lösung ist aus der Dissoziationskonstante des Wassers und der Harnsäure (bei der schwachen Ammoniumbase auch aus deren Dissoziationskonstante) und dem Gehalt der gesättigten Lösungen an Salz berechnet. Die durch die hydrolytische Dissoziation auftretende Konzentration an OH-Molen in einem Liter beträgt nach dieser Berechnung (Gudzent) beim Ka-Salz $= 5{,}6 \cdot 10^{-7}$ und beim Ammoniumsalz $= 0{,}27 \cdot 10^{-7}$. Da der OH-Molen-Gehalt von einem Liter Wasser (der Neutralpunkt) $= 0{,}8 \cdot 10^{-7}$ beträgt, so muss die Lösung des Kaliumbiurats alkalisch reagieren (der OH-Gehalt seiner Lösungen liegt über dem Neutralpunkt) und die Lösung des Ammoniumbiurats sauer reagieren.

Das am leichtesten in Wasser lösliche Alkalibiurat ist das Lithiumbiurat. Es löst sich nach von Schilling in 370 Teilen kalten und 39 Teilen kochenden Wassers [1]). Nach Vicario [2]) lösen 100 Teile Wasser von 18° 0,258 g, 100 Teile Wasser von 37° 0,276 g Lithiumbiurat. Es wird gelatinös erhalten. Nach der oben beschriebenen Methode der Darstellung des krystallisierten Natriumurats ist es mir nicht gelungen, das Lithiumbiurat krystallisiert zu erhalten.

Das Natriumbiurat krystallisiert mit einem Molekül Wasser [3]), die ältere Angabe von Behrend und Roosen [4]) ist irrtümlich. Es ist wie das Heteroxanthin- und das Paraxanthin-Natrium in konzentrierter Natronlauge unlöslich [5]). Es krystallisiert im monoklinen System [6]).

Das Kaliumbiurat krystallisiert krystallwasserfrei [3]).

[1]) Ann. d. Ch. u. Ph. **122**. 241.
[2]) Journ. de Pharm. et de Chim. **15**. 268. 1902.
[3]) Gudzent, l. c.
[4]) Ann. d. Ch. u. Ph. **251**. 252. 1889.
[5]) Salkowski, Pfl. Arch. **56**. 349. 1894.
[6]) Gudzent und Tannhäuser, Zeitschr. f. ph. Ch. **60**. 1909.

Digitized by Google

Das Ammoniumbiurat krystallisiert ebenfalls ohne Wasser [1], seine Krystalle gehören dem rhombischen System an [2]. Es ist in konzentrierten Ammonsalzlösungen unlöslich (Chlorid [3], Sulfat [4], Acetat [5]).

Harnsaures Alkali wird durch Chlorammon gefällt (Liebig und Wöhler), und zwar als saures Ammonurat. Dieses Salz bildet sich immer, wenn Harnsäure in alkalischer Lösung (in Alkalihydrat, einfach saurem Phosphat) und ein Ammonsalz aufeinander treffen. Es ist nach Hopkins in gesättigter Chlorammonlösung völlig unlöslich, löst sich nach Fokker auch nicht in Harnstofflösung, aber in verdünntem Harn. Ammoniak (Schultens) sowie Ammonsalze (Wetzlar) fällen die Harnsäure aus Harn in einigen Stunden so vollständig, dass eine Säure darauf keinen Niederschlag mehr gibt; dagegen scheidet sich aus Harn, aus welchem die Harnsäure mit Salzsäure gefällt ist, auf Zusatz von Ammoniak noch Harnsäure ab (Schwanert). Sättigt man Harn mit Chlorammon, so fällt alle Harnsäure binnen zwei Stunden als saures Urat aus (Hopkins). Diese Ausscheidung erfolgt auch beim Sättigen des Harns mit Ammonsulfat, der Niederschlag tritt aber langsam auf und ist erst nach einigen Tagen vollständig; dieser Niederschlag ist ziegelrot und amorph (Edmunds [6]).

Einige organische Basen bilden mit der Harnsäure leicht lösliche Salze und besitzen daher ein grosses Lösungsvermögen für die Harnsäure. Nach Rüdel [7]) löst sich 1 g Harnsäure in 1890 ccm 2proz. Harnstofflösung. — Piperazin (Diäthylendiamin) HN $(C_2H_4)_2$NH, welches selbst mit einem grösseren Überschuss an Harnsäure immer das neutrale Salz $C_4H_{10}N_2 . C_5H_4N_4O_3$ bildet, löst nach Majert und Schmidt die Harnsäure sehr leicht und schon in der Kälte; 1 Teil des Salzes löst sich bei 17° in ungefähr 50 Teilen Wasser. Nach v. d. Klip löst Piperazin bei 16—36° ungefähr eben so viel Harnsäure, wie kohlensaures Lithion, nach Plugge aber besitzt Piperazin in konzentrierter Lösung für Harnsäure ein grösseres Lösungsvermögen als Lithioncarbonat, in grosser Verdünnung dagegen ein geringeres. In einer 10proz. Piperazinlösung ist harnsaures Piperazin nicht unlöslich (Salkowski). Wie Meisels angibt, übt ein Harn mit 2 % und mehr Piperazin auf Harnsäure und Uratkonkremente keine lösende Wirkung aus. — Auch das weinsaure Dimethylpiperazin (Lycetol) wird von Wittzack als ein Harnsäure lösendes Mittel bezeichnet. — Das harnsaure Methylglyoxalidin (Lysidin) $C_4H_8N_2 . C_5H_4N_4O_3$ löst sich nach Ladenburg [8]) schon in sechs Teilen Wasser.

---

[1]) Gudzent, l. c.

[2]) Gudzent und Tannhäuser, l. c.

[3]) Hopkins, Proc. roy. soc. **52**. 93. 1892.

[4]) Edmunds, Am. Journ. of phys. **17**. 452. 1895. — O. Folin, Zeitschr. f. ph. Ch. **24**. 242. 1897. — E. Wörner, ebenda. **29**. 72. 1899. — Folin u. Shaffer, ebenda. **32**. 557. 1901.

[5]) Folin, ebenda. **24**. 232, 242. 1897.

[6]) Liebig und Wöhler, Ann. d. Ch. u. Pharm. **26**. 342. 1838. — F. Gowland Hopkins, Proceedings of the roy. Soc. **52**. 93. 1893; Journ. of Pathology and Bacteriology June 1893; Chem. Zentralbl. 192. **2**. 8269. — Fokker, Pflügers Archiv **10**. 155 u. 161. — A. Edmunds, Journ. of Physiol. **17**. 452. 1895. — Schultens, Gehlens Neues Journ. d. Chem. **3**. 347. 1804. — G. Wetzlar, Beiträge zur Kenntnis des menschlichen Harns. Frankfurt a. M. 1821. 19.

[7]) Horbaczewski, Zeitschr. f. physiol. Ch. **18**. 347. 1893. — Salkowski, Virchows Archiv **50**. 193. 1870; Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1894. 515. — G. Rüdel, Arch. f. exper. Pathol. **30**. 469. 1892.

[8]) W. Majert u. A. Schmidt, Ber. d. chem. Gesellsch. **23**. 3722. 1890. — R. v. d. Klip, Tijdschr. v. Geneesk. 1892. **1**. 445; Jahresb. f. Tierch. 1892. 531. — P. C. Plugge, Niederl. Tijdschr. voor Pharmazie **6**. 355. 1894; Ch. Zentralbl. 1895. **1**. 293. — Salkowski, Pflügers Archiv **56**. 349. 1894. — W. A. Meisels, Ungar. Arch. f. Med. **1**. 364; Jahresb. f. Tierch. 1893. 582. — H. Wittzack, Allgem. med. Zentralztg. **7**. 1894; Jahresb. f. Tierch. 1894. **634**. — A. Ladenburg, Ber. d. chem. Gesellsch. **27**. 2952. 1894.

Digitized by Google

Die Löslichkeit der Urate einiger organischer Basen in 100 Teilen Wasser gibt Vicario (l. c.) wie folgt an:

	b. 18°	b. 37°
Propylamin	0,285	0,426
Äthylendiamin	0,520	0,705
Diäthylendiamin (Piperazin)	2,223	2,227
Methylglyoxalidin (Lysidin)	4,195	5,663
Dimethylpiperazin	5,370	6,086
Urotropin	0,633	2,20

Leicht löslich ist auch das Piperidinsalz [1]).

Über das Verhalten von Pyridin vgl. W. Bräutigam, Pharm. Zeitschr. 47. 1902.

Mit Kreatinin verbindet sich Harnsäure äquimolekular, es handelt sich also um ein primäres Salz [2]).

Lösungen von Harnsäure (als Natronsalz) in Harnstofflösungen von 6 % und darüber scheiden nach Rüdel (l. c.) auf Zusatz von Säure keine Harnsäure ab, sondern eine Verbindung von Harnsäure mit Harnstoff als flockigen, sich gut absetzenden und sich erst bei 70—80° wieder lösenden Niederschlag. Säuert man die alkalische Lösung an, so besteht die Verbindung aus $CH_4N_2O . C_5H_4N_4O_3, H_2O$, neutralisiert man nur, so fällt $2CH_4N_2O, C_5H_4N_4O, 4H_2O$ aus. Für die Bildung des sauren Salzes muss die Lösung mindestens 6 % Harnstoff enthalten, für die des neutralen Salzes ist eine 10proz. Harnstofflösung erforderlich. Beide Verbindungen sind weiss, flockig, ballen sich zu Fetzen und Häuten zusammen, zeigen unter dem Mikroskop Andeutungen von Kugeln und Zylindern und bilden auf dem Filter ein mattglänzendes Häutchen. Wasser und Alkohol zersetzt die Verbindungen, Alkalien lösen sie leicht, verdünnte Salzsäure verändert sie nicht, verdünnte Salpetersäure scheidet salpetersauren Harnstoff ab, konzentrierte Salpetersäure zerlegt sie unter Gasentwicklung.

Das Calciumbiurat löst sich nach Allan und Bensch [3]) in 603 Teilen kalten und 276 Teilen heissen Wassers; wäre also in der Kälte löslicher als das Natriumbiurat. Das neutrale Calciumurat ist viel weniger löslich.

Das Magnesiumbiurat krystallisiert mit $3H_2O$. Man erhält es leicht gut krystallisiert, wenn man reinste Harnsäure mit überschüssigem Magnesiumoxyd und Wasser zum Sieden erhitzt und das Filtrat erkalten lässt [4]). Im allgemeinen werden die Biurate der alkalischen Erden durch Umsetzung der betreffenden Salze mit Alkalibiurat erhalten (Bensch, l. c.). Es löst sich nach Allan und Bensch (l. c.) in 3750 Teilen kalten und 160 Teilen kochenden Wassers.

Das saure Bariumsalz ist unlöslich. Die Harnsäure wird aus neutralen Lösungen durch Chlorbarium vollständig gefällt [5]).

Das Strontiumbiurat löst sich nach Allan und Bensch (l. c.) in 5300 Teilen kalten und 2300 Teilen kochenden Wassers.

Die Urate lassen sich infolge ihrer Zersetzlichkeit in der Wärme meist nicht in der gewöhnlichen Weise umkrystallisieren. Man wird zur Darstellung der krystallisierten Salze der Harnsäure in ähnlicher Weise vorgehen müssen, wie es oben für das Natriumbiurat beschrieben worden ist. Sie sind weder in Lösung, noch im festen Zustande beständig, sondern zersetzen sich. Sie gehen ziemlich rasch durch tierische Membranen, besser aus salzhaltigen Lösungen. Nichtelektrolyte hemmen die Dialyse nicht, wohl aber Kolloide [6]). Die Löslichkeit

---

[1]) Tunnicliffe, C. f. Phys. 11. 434. 1897.
[2]) G. Klemperer, Fortschr. d. Med. 1901. 328.
[3]) Ann. d. Ch. u. Ph. 65. 149. 1848.
[4]) v. Knaffl und Wiechowski, Zeitschr. f. ph. Ch. 77. 303. 1912.
[5]) Geelmuyden, J. I. 22. 198.
[6]) H. Lévigne, Diss. Lyon. 1905/06. J. T. 36.

Digitized by Google

der Biurate wird naturgemäss durch die Anwesenheit von Salzen, welche das gleiche Anion enthalten, erheblich herabgesetzt infolge der Zurückdrängung der Dissoziation. Bei dem Natriumgehalt des Blutserums beträgt die Löslichkeitserniedrigung der Laktamform des Natriumbiurats 91,35% der Laktimform 94,1% (Gudzent[1])).

Aber auch durch Zusatz von Salzen mit einem anderen Kation wird die Löslichkeit der Biurate herabgedrückt, wenn das hinzugefügte Kation mit der Harnsäure ein schwerer lösliches Salz bildet. Es fällt allemal das schwerer lösliche Salz aus. Zusatz von Kochsalz zu einer Lithiumbiuratlösung fällt Natriumbiurat aus, ebenso fällt Kochsalz aus einer Lösung von Harnsäure in Piperazin oder einer anderen organischen Base Natriumbiurat aus. In gleicher Weise wirkt der Zusatz von Ammonsalzen (s. o.). Dementsprechend kann die Zugabe von Lithiumsalz die Löslichkeit des Natriumbiurats in Wasser nicht verbessern. Dagegen berichten Bechhold und Ziegler (l. c.) über eine Verbesserung der Uratlöslichkeit im Serum durch K, Li, Mg-Salze und Ra-Emanation. Unwahrscheinlich mutet dabei die Angabe von Vindevogel (S. 1024) an, dass Kochsalz eine Lösung von Harnsäure in Pottaschelösung oder Harnstoff nicht fälle. Aus dem genannten Grunde wirken die in vitro die Harnsäure leicht lösenden Basen in kochsalzhaltigen Medien wie der Harn weit weniger oder gar nicht (s. w. u.).

Beide Bleisalze sind unlöslich.

Neutrale harnsaure Salze geben selbst in grosser Verdünnung mit Quecksilberchlorid sofort einen weissen Niederschlag wie die anderen Purinstoffe. Dasselbe gilt von anderen Quecksilbersalzen, wie dem Nitrat und Acetat.

Eine verdünnte schwach ammoniakalische Harnsäurelösung (mit neutralem Urat) bleibt auf Zusatz einer ammoniakalischen Silberlösung klar; fügt man der Mischung aber ein Neutralsalz oder eine ammoniakalische Magnesialösung in Salmiak hinzu, so entsteht sofort ein leichter grossflockiger oder gelatinöser Niederschlag (ein Salz der Harnsäure mit Silber und der zweiten als Salz zugesetzten Basis), der sich nach einiger Zeit absetzt, schmutzig weiss oder gelblich erscheint und fast alle Harnsäure enthält (Maly). Nach Schröder lässt sich noch 1 mg Harnsäure aus 200 ccm Wasser als Silber-Magnesia-Salz abscheiden. — Pepton und Propepton beeinträchtigen nach Stadthagen diese Fällung der Harnsäure nicht. — Fällt man Harnsäure in Gegenwart von Magnesiasalz mit ammoniakalischer Silberlösung, so enthält der Niederschlag auf 1 Mol. Harnsäure 1 At. Silber (Haycraft, Herrmann, Czapek[2]).

Wie die Xanthinbasen gibt auch die Harnsäure mit Kupferoxydul eine so gut wie unlösliche Verbindung. Sie entsteht als weisser feiner, an der Luft grünlich werdender Niederschlag beim Kochen von Harnsäure mit Fehlingscher Lösung wobei das Kupferoxyd durch die Harnsäure selbst zu Oxydul reduziert wird, oder wenn Harnsäure in alkalischer Lösung mit einer Kupferoxydullösung in anderer Weise zusammentrifft. (Reduktion der Fehlingschen Lösung durch Traubenzucker, durch Hydroxylaminsalz, Balke, oder von Kupfersulfat durch Bisulfit, Krüger). In der Wärme entsteht der Niederschlag sofort. Mit Kupfersulfat und Natriumhyposulfit gibt dagegen eine Harnsäurelösung nach Krüger[3]) weder in der Kälte noch in der Wärme einen Niederschlag; die Bildung von harnsaurem Kupferoxydul in Fehlingscher Lösung wird durch Thiosulfat etwas beschleunigt, durch Bisulfit dagegen sofort hervorgerufen.

Sowohl die Fällung durch ammoniakalische Silberlösung und Magnesiamixtur als die durch Kupfersulfat und Bisulfit, werden durch Nucleinsäure und

---

[1]) Zeitschr. f. ph. Ch. **63**. 1909.

[2]) Maly, Pflügers Archiv **6**. 203. — v. Schröder, Beiträge zur Physiologie. C. Ludwig gewidmet 1887. 92. — Stadthagen, Virchows Archiv **109**. 398. — J. B. Haycraft, Zeitschr. f. anal. Ch. **25**. 168. — Aug. Herrmann, Zeitschr. f. physiol. Ch. **12**. 500. — F. Czapek, daselbst 508.

[3]) P. Balke, Journ. f. prakt. Ch. [2] **47**. 546. — M. Krüger, Zeitschr. f. physiol. Ch. **18**. 354.

Digitized by Google

Thyminsäure gehemmt oder verhindert [1]). Wahrscheinlich sind auch andere Stoffe in dieser Richtung wirksam (Albumosen etc.).

Nach Balke kommt der Verbindung die Zusammensetzung $C_5H_4N_4O_3 . Cu_2O$ zu. Sie löst sich nach Krüger [2]) erst in 360 000 Teilen Wasser. Alkalihydrate zersetzen sie nicht, aber in Thiosulfat ist sie nach Krüger löslich. Schwefelalkalien zerlegen sie unter Bildung des der Basis entsprechenden Urats.

Harnsäure gibt nach Kreidl [3]) mit Nesslerschem Reagens einen dem Gewicht der Säure proportionalen Niederschlag.

b) Mit Säuren.

Harnsäure löst sich ziemlich leicht in warmer konzentrierter Schwefelsäure (Wetzlar) und beim Erkalten der Lösung krystallisiert schwefelsaure Harnsäure aus. Das Salz wird durch Wasser wieder in seine Bestandteile zersetzt (Fritsche [4])).

Gaube [5]) nimmt das Bestehen von Doppelsalzen der Harnsäure und Phosphorsäure an (Urophosphate), aber ohne ausreichenden Beweis. Pfeiffer [6]) hat den Versuch gemacht, diese Annahme zu stützen.

Versetzt man die Lösung eines reinen harnsauren Salzes mit Salzsäure und darauf, so lange die Flüssigkeit noch klar ist, mit Phosphorwolframsäure, so entsteht sofort ein hellschokoladebrauner feinkörniger Niederschlag. Harnsäurelösung, aus welcher die Harnsäure durch Salzsäure gefällt ist, liefert mit dem Reagens langsam einen noch ganz deutlichen Niederschlag brauner, würfelähnlicher, rhombischer Krystalle. Die Niederschläge geben die Murexidprobe. Wird gefällte Harnsäure mit saurer Phosphorwolframsäure geschüttelt, so verwandelt sie sich nach und nach in Aggregate der braunen Krystalle (Huppert). Die Fällung der Harnsäure durch Phosphorwolframsäure ist nach Schöndorff [7]) vollständig.

Von der Fällbarkeit der Harnsäure durch Phosphorwolframsäure gilt das, was oben von der Fällbarkeit der Purinstoffe überhaupt durch dieses Reagens gesagt ist. Verdünnt man die konzentrierte Lösung von Natriumurat mit dem gleichen Volumen Wasser, so erzeugt eine 1%ige PWS-Lösung bei Gegenwart von 1% Salzsäure von 1,19 sp. Gew. keine Fällung mehr. Die konzentrierte Uratlösung wird noch gefällt, der Niederschlag ist jedoch schon bei mässiger Wärme (40°) löslich. Vermeidet man daher einen Überschuss von PWS, so kann man Flüssigkeiten, welche Stoffe enthalten, die sehr leicht mit PWS fallen — wie den Harn — ohne einen Verlust an Harnsäure befürchten zu müssen, durch PWS reinigen. Man setzt zu diesem Zwecke zu der Flüssigkeit 1% Salzsäure von 1,19 sp. Gew. oder die äquivalente Menge Schwefelsäure und ermittelt in kleinen Proben von ca. 4 ccm

1) M. Goto, Zeitschr. f. physiol. Ch. **30**. 473.
2) Krüger, a. a. O. **20**. 170 u. a. a. O.
3) J. Kreidl. Monatsh. f. Ch. **14**. 109. 1893.
4) G. Wetzlar, Beiträge zur Kenntnis des menschlichen Harns 1821. 67. — Fritzsche, Ann. d. Ch. u. Pharm. **28**. 332.
5) Gaube, C. r. de la Soc. de Biol. [9] **1**. 383. 1889 und **2**. 404. 1890.
6) E. Pfeiffer, Berliner klin. Wochenschr. 40. 41. 1894. 915.
7) B. Schöndorff, Pflügers Archiv **62**. 29. 1895.

Digitized by Google

diejenige grösste Menge von 1% PWS, welche man zusetzen kann, ohne dass im Filtrat PWS nachweisbar wird. Als Reagens auf PWS verwendet man irgend ein besonders leicht fällbares Alkaloidsalz (uns hat sich Chininhydrochlorid bewährt, Bass, unveröffentlicht) oder den Harn selbst. Um jeder Möglichkeit einer Fällung von Harnsäure vorzubeugen, kann man unmittelbar nach dem aus dem Ausfall der Vorproben für die Hauptmenge der Flüssigkeit berechneten und erfolgten Zusatz von PWS eine kleine Quantität einer 5%igen Chininhydrochloridlösung hinzufügen. Die Filtration soll sofort vorgenommen werden. Bei Anwesenheit von sehr viel Harnsäure kann man die ganze Prozedur bei gelinder Wärme (40—50⁰) vornehmen.

Sehr vollständig wird die Harnsäure (aus Harn) nach Jaffé[1]) neben dem Kreatinin durch Pikrinsäure gefällt; das Filtrat gibt mit ammoniakalischer Silberlösung nur eine minimale Trübung.

Bei Anwesenheit von Nucleaten wird eine Uratlösung durch Essigsäure nicht gefällt und Kupferchlorid erzeugt in der Lösung einen Niederschlag, welcher ein konstantes Verhältnis von N:P aufweist[2]). Die Annahme, dass es sich um eine Verbindung von 1 Mol. Nucleinsäure und 2 Mol. Harnsäure handle, wurde aber widerlegt[3]).

c) Die Harnsäure vermag Aldehyde anzulagern. Die entstandenen Verbindungen haben durchaus andere Eigenschaften als die Harnsäure. Harnsäure löst sich in käuflichem 40%igem Formaldehyd leicht, insbesondere in der Wärme, beim Erkalten fällt ein krystallisiertes Produkt aus[4]). Durch Reduktion der erhaltenen Verbindungen durch Zn und HCl gelangt man zu den verschiedenen Methylharnsäuren[5]), die Anlagerung findet also an den N-Atomen statt. Meist handelt es sich um die Di-Formylverbindung. Es entstehen aber unter Umständen auch Verbindungen mit 1 und 4 Mol.[4]) Formaldehyd. Die Formaldehyd-Harnsäuren werden durch Säuren nicht gefällt, doch wirken Säuren etwas hemmend auf die Entstehung. Die Harnsäure löst sich in Formaldehyd leichter bei Gegenwart von Alkali. Kochsalz ist ohne Einfluss auf die Löslichkeit[6]). Löst man das Di-Produkt in Schwefelsäure und fällt mit Wasser, so erhält man Anhydroformaldehydharnsäure[7]). Die Di-Formaldehydharnsäure verhält sich im Organismus anders als Harnsäure[8]), wird jedoch nach Schittenhelm (Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 44) vom Hunde wie Harnsäure zu Allantoin oxydiert.

1) Jaffé, Ztschr. f. physiol. Ch. **10**. 393. 1886.
2) Seo, Arch. f. exp. Path. u. Ph. **57**. 75. 1907.
3) Schittenhelm, Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. **4**. 1907.
4) Weber, Pott und Tollens, B. B. **30**. 2514. 1897.
5) Böhringer Söhne Mannheim-Waldhof. Patentbl. **20**. 873. 1899. Ch. Z. 1900. I. 270.
6) Vindevogel, Ann. soc. roy. sc. méd. et natur. Bruxelles 9. fasc. **1**. **63**. 1900.
7) A. Nikolaier, Arch. f. klin. Med. **89**. 168. 1907.
8) Minkowski, Deutsche med. Wochenschr. **28**. 499. 1902.

Digitized by Google

Ebensowie der Formaldehyd bilden andere Aldehyde (Acet-Salicylaldehyd, Vanillin) mit Harnsäure leicht lösliche, säurebeständige Verbindungen [1]).

Beim Schütteln mit Benzoychlorid nimmt die Harnsäure kein Benzoyl auf [2]). Ebensowenig gibt sie mit Diazobenzolsulfosäure eine Diazoamidoverbindung [3]).

4. Zersetzungen.

a) Wenn man Harnsäure 50 Stunden lang unter Luftabschluss mit Wasser kocht, so entsteht nach Magnier de la Source Dialursäure $C_4H_4N_2O_4$ und Harnstoff (Kohlensäure und Ammoniak). Wird Harnsäure tagelang mit Wasser auf 150° erhitzt, so bildet sich nach Wöhler harnsaures Ammon. Aber bei nur vierstündigem Erhitzen von Harnsäure mit einer Lösung der Harnsalze wird nach Cazeneuve und Hugounenq kein Ammoniak gebildet. Bei vierstündigem Kochen mit Magnesia entwickelt die Harnsäure nach Berthelot und André kein Ammoniak; verreibt man dagegen Harnsäure zwei Stunden lang mit 10proz. Salzsäure, so liefert das Filtrat beim Destillieren mit Magnesia 1 % des Stickstoffs der Harnsäure als Ammoniak. Eine siedende Lösung von Kaliumurat beginnt sich nach Kreidl [4]) nach zwölf Stunden zu zersetzen, auch in einer Stickstoffatmosphäre. Mit Wasser von 100° zersetzt sich Harnsäure ebenfalls [4]). Die dabei auftretenden Produkte verbrauchen mehr Permanganat als die verwendete Harnsäure. In der Kälte tritt erst nach sechs Tagen Zersetzung ein. Diese spontane Zersetzung der Harnsäure in wässeriger Lösung wird durch Platin beschleunigt [5]), durch Mineralsäure verhindert [6]). Eine wässerige Harnsäurelösung lässt sich nicht ohne merkbare Zersetzung eindampfen [6]), schon bei einer Temperatur von 18° tritt nach 17 Stunden Zersetzung ein [6]). Bei der Dialyse geht ein Teil der Harnsäure durch Zersetzung verloren [7]).

b) Durch Natriumamalgam wird die Harnsäure bei Abschluss der Luft nicht verändert (E. Fischer [8])).

Beim Erhitzen mit konzentrierter (Jodwasserstoffsäure oder) Salzsäure auf 160—170° zerfällt die Harnsäure in Glycocoll, Kohlensäure und Ammoniak (Strecker [9])).

c) Die Harnsäure wird in alkalischer Lösung bei Zutritt von Luft zu Uroxansäure oxydiert (Staedeler [10])):

$$C_5H_4N_4O_3 + 2H_2O + O = C_5H_8N_4O_6.$$

Die Zersetzung erfolgt ziemlich schnell; nach Nencki und Sieber verschwanden 5 g in 200 ccm 10 proz. Kalilauge gelöste Harnsäure bei Bluttemperatur in fünf Tagen. Bei sehr kleinen Harnsäuremengen macht sich nach v. Schröder der Verlust an Harnsäure schon in kürzester Zeit bemerkbar. Eine Lösung von Kaliumurat, welche nur einen geringen Überschuss von Kaliumhydrat oder etwas Natriumcarbonat enthält, erleidet nach Kreidl schon Zersetzung, die Alkaleszenz verschwindet und von da an bleibt die Lösung unverändert; Durchleiten von Luft durch die Flüssigkeit beschleunigt die Zersetzung. Schnell erfolgt die Bildung

[1]) G. Klemperer, Kongress f. inn. Med. 1902. 219.
[2]) v. Udanszky und Baumann, B. B. **21**. 2751. 1888.
[3]) R. Burian, Zeitschr. f. ph. Ch. **43**. 501. 1905.
[4]) Magnier de la Source, Bull. de la Soc. chim. [2] **23**. 483. 1875. — Wöhler, Ann d. Ch. u. Pharm. **103**. 118. 1857. — Cazeneuve und Hugounenq, Bull. de la Soc. chim. [2] **48**. 82. — Berthelot und André, Bull. de la Soc. chim. [2] **47**. 840. — Kreidl, a. a. O. 113.
[5]) Gudzent, Zeitschr. f. ph. Ch. **60**. 25. 1900.
[6]) His und Paul, Zeitschr. f. ph. Ch. **31**. 65. 1900.
[7]) H. Lévigne, Diss. Lyon 1905/06. J. T. 36.
[8]) E. Fischer, Ber. d. chem. Gesellsch. **17**. 329. 1884.
[9]) A. Strecker, Ann. d. Ch. u. Pharm. **146**. 142. 1868.
[10]) Staedeler, Ann. d. Ch. u. Pharm. **78**. 286. 1851.

Digitized by Google

der Uroxansäure nach Sundwik[1]) beim Behandeln einer alkalischen Harnsäurelösung mit Permanganat in der Kälte.

Bei längere Einwirkung ist jedoch die Zersetzung schon bei 37° und geringer Alkalessenz deutlich[2]). Eiweisslösungen sollen die Harnsäure gegen den zersetzenden Einfluss der Alkalien schützen[3]). Auch Piperazin und Schwefelammon wirken zersetzend[4]), ebensowie Ammoniak[5]), die Wirkung des Ammoniaks wird durch Ammonsalze verhindert.

Entgegen der Annahme von Hirschstein[6]) entsteht bei der Zersetzung der Harnsäure durch Alkali (5 % Lauge in der Kälte) kein Glycocoll[7]).

In Anbetracht dieser Umstände hat man bei Zersetzungsversuchen mit Harnsäure alkalische Lösungen zu vermeiden und womöglich in ausgedämpften Hartglasgefässen zu arbeiten, um die Wirkung des aus dem weichen Glase in Lösung gehenden Natrons zu umgehen. Man wird immer die Beobachtung machen, dass je reiner das verwendete Urat ist, um so geringer die Zersetzlichkeit ist.

f) In neutraler oder alkalischer Lösung wird die Harnsäure durch Bleisuperoxyd, Braunstein, Ferricyankalium, Kupferoxyd, Quecksilberoxyd, Ozon, Natrium- und Baryumsuperoxyd (Krüger), durch Permanganat die in Wasser suspendierte Harnsäure (Claus), unter bestimmten Umständen auch durch Jod (Bryk[8])) zu Allantoin oxydiert:

$$C_5H_4N_4O_3 + O + H_2O = C_4H_6N_4O_3 + CO_2.$$

Nach Behrend und Schultz[9]) entsteht bei der Permanganat- oder Luftoxydation der Harnsäure bei alkalischer Reaktion ein Zwischenkörper, der in alkalischer Reaktion zu Uroxansäure, in saurer zu Allantoin führt. Da nach Behrend die Uroxansäure eine Diureidomalonsäure ist, so kann man sich das Zwischenprodukt als Glycolurilcarbonsäure oder als Glycoluriloxycarbonsäure denken, je nachdem man eine einfache Hydrolyse oder eine Hydrolyse mit Oxydation als ersten Akt annimmt. Dieser Zwischenkörper erklärt dann auch die Entstehung von Tetracarbonimid und Carbonyldiharnstoff bei der Oxydation mit Wasserstoffsuperoxyd (s. w. u.). Allantoin erhält man aus Harnsäure quantitativ, wenn man nach E. Sundwik[10]) 100 g Harnsäure in zwei Litern Wasser aufschwemmt, durch Natriumhydroxyd in Lösung bringt und eine kalte konzentrierte Lösung von 62 g Kaliumpermanganat einträgt. Nach einer Stunde ist die Entfärbung beendet, man filtriert dann, säuert mit Essigsäure an und engt zur Krystallisation ein. Schliesslich entsteht bei der Oxydation der Harnsäure in alkalischer Lösung Oxonsäure.

Kocht man eine verdünnte Fehlingsche Lösung nach Zusatz von etwas harnsaurem Alkali, so scheidet sich infolge der Oxydation der Harnsäure durch das Kupferoxyd rotes Kupferoxydul ab, oder, wenn Harnsäure im Überschuss

[1]) Nencki und Sieber, Journ. f. prakt. Ch. [2] **24**. 503. 1881. — v. Schröder, a. a. O. 94. — Kreidl, a. a. O. 114. — E. E. Sundwik, Zeitschr. f. physiol. Ch. **20**. 335.

[2]) Wiechowski und Wiener, Hofmeisters Beitr. z. ch. Phys. u. Path. **9**. 251. 1907.

[3]) Ph. Mitchel, Journ. of biol. Ch. **3**. 145. 1907.

[4]) H. Stevens und Clar. E. Mau, Journ. am. ch. soc. **33**. 434. 1911. — Folin und Shaffer, Zeitschr. f. ph. Ch. **32**. 560. 1903.

[5]) Folin und Shaffer, l. c.

[6]) Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. **4**. 1907. 118.

[7]) Samuely, ebenda **4**. 558. 1907. — Brugsch und Schittenhelm, ebenda **4**. 438.

[8]) M. Krüger, Zeitschr. f. physiol. Ch. **21**. 313. — Claus, B. B. **7**. 227. 1864. — E. Bryk, Monatsh. f. Ch. **15**. 519. 1894

[9]) Ann. d. Ch. u. Ph. **365**. 21. 1909.

[10]) Zeitschr. f. ph. Ch. **41**. 343. 1904.

Digitized by Google

vorhanden war, auch ein weisser Niederschlag von harnsaurem Kupferoxydul (Gairdner, Berlin, Böttger, Babo und Meissner, Béhier, Leconte u. a.). — Kupferoxyd-Ammoniak oxydiert die Harnsäure bei Gegenwart von Kali zu Harnstoff und Oxalsäure. Die ammoniakalische Fehlingsche Lösung wird nach Moritz durch 100 g Harnsäure so stark reduziert, wie durch 54,3 g Zucker; das Reduktionsvermögen der Harnsäure ist darnach genau halb so gross wie das des Zuckers, oder, da unter diesen Umständen 1 Mol. Zucker durch 6 Mol. Kupferhydrat oxydiert wird, 1 Mol. Harnsäure wird durch 3 Mol. Sauerstoff oxydiert.

Nach Worm-Müller[1]) kann harnsaures Kali bei genügendem Überschuss an Kaliumhydrat mehr als 2 Mol. Kupferhydrat in Lösung erhalten; es tritt aber bald der weisse Niederschlag von harnsaurem Kupferoxydul auf, um so schneller, je stärker alkalisch die Lösung ist. In der Siedehitze kann 1 Mol. Harnsäure 2 Mol. Kupferoxyd (aus Fehlingscher Lösung) reduzieren. Enthält die Mischung, neben mehr als 0,05 % Harnsäure, bloss die Hälfte dieser Kupferoxydmenge oder weniger, so bleibt das gebildete Kupferoxydul in Lösung oder fällt als harnsaures Salz aus; Lösungen mit weniger als 0,05 % Harnsäure geben mit 1—1,5 Mol. $Cu(OH)_2$ auf 1 Mol. Harnsäure am leichtesten einen Kupferoxydulniederschlag, (weil die überschüssige Harnsäure durch das Alkalihydrat zerstört wird). Das harnsaure Kupferoxydul wird durch Kochen mit Lauge nicht verändert, durch Kochen mit Fehlingscher Flüssigkeit aber in rotes Kupferoxydul übergeführt. Wenn das Kupferhydrat bei Überschuss an Alkalihydrat durch die Harnsäure allein gelöst ist, tritt schon in der Kälte Reduktion ein; in der Siedehitze erhält man sie in einer solchen Lösung noch bei 0,016 %, mit Fehlingscher Lösung noch bei 0,006 % Harnsäure; bei 60—70°, wo das Kupferhydrat noch durch Zucker reduziert wird, ist die Reaktion mit Harnsäure sehr schwach. Ist eine zur vollen Oxydation der Harnsäure nicht genügende Menge Kupferoxyd zugegen, so sind die gebildeten Zersetzungsprodukte der Harnsäure imstande, mehr als die bei der Reaktion gebildete Menge Kupferoxydul in Lösung zu erhalten. — Die richtig angestellte Probe zeigt noch 0,35 mg Harnsäure in 5 ccm Lösung durch einen deutlichen Kupferoxydulniederschlag an.

g) Eine Lösung von Wolframsäure in überschüssiger Lauge färbt sich nach Maschke mit Harnsäure grün oder blau und entfärbt sich beim Schütteln mit Luft wieder. Dieselbe Reduktion tritt nach Offer[2]) ein bei Verwendung von Phosphormolybdänsäure; einigermassen konzentrierte Harnsäurelösungen scheiden das gebildete molybdänsaure Molybdänoxyd sofort in mikroskopischen tiefblauen sechsseitigen Prismen ab. Auch Phosphorwolframsäure wird bei alkalischer Reaktion von Harnsäure unter Blaufärbung reduziert[3]).

h) Eine Harnsäurelösung, welche überschüssiges Natron oder Kali enthält, reduziert (bei Anwesenheit von Ammonsalz) salpetersaures Silberoxyd sehr leicht. Auch kohlensaures Silber wird durch Harnsäure oder harnsaures Alkali durch Reduktion des Silberoxyds sofort geschwärzt (H. Schiff). Nach Mizerskis[4]) Bestimmung scheiden 0,380 g Harnsäure aus ammoniakalischer Silberlösung 1 g metallisches Silber ab, das wäre auf 1 Mol. Harnsäure 4,09 At. Silber.

Eine reine Lösung von Natriumbiurat in Wasser lässt auf Zusatz von ammoniakalischer Silberlösung in kürzester Zeit einen schwarzen Niederschlag ausfallen und wird noch in äusserster Verdünnung braun gefärbt.

i) Beim Kochen von Harnsäure oder harnsaurem Kali mit Eisenchlorid wird das Eisenoxydsalz zu Oxydulsalz reduziert und entstehen Harnstoff und Oxalsäure[5]).

[1]) Worm-Müller, Pflügers Archiv **27**. 22. 1882.

[2]) F. Moritz, Archiv f. klin. Med. **46**. 242 u. 225. 1890. — O. Maschke, Zeitschr. f. anal. Ch. **16**. 425. 1877. — Th. R. Offer, Zentralbl. f. Physiol. 8. 801. 1895.

[3]) H. Moreigne, Ann. ch. analyt. appl. **10**. 15. 1905. — C. Frabot, Repert. Pharm. **6**. 481. 1904. — Cervello, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **61**. 434. 1909.

[4]) H. Schiff, Ann. d. Ch. und Pharm. **109**. 67. — A. Mizerski, Nowiny lekarskie 3. 1893. 121; Jahresb. f. Tierch. 1893. 251.

[5]) Salkowski, Pflügers Archiv **2**. 958.

Digitized by Google

j) Ferrisulfat zersetzt eine Harnsäurelösung im Lichte in wenigen Tagen beträchtlich [1]).

k) Das Licht wirkt an sich auf reine Lösungen von krystallisiertem Natriumbiurat zersetzend, sehr beschleunigt wird diese Zersetzung durch Anwesenheit von Eosin [2]).

l) Durch Wasserstoffsuperoxyd entsteht in alkalischer Lösung bei Wasserbadwärme aus Harnsäure Tetracarbonimid [3]) und Carbonyldiharnstoff [4]), durch Ammoniumpersulfat: Allantursäure, Ammoniak, Harnstoff und Glycocoll [5]).

m) Kreidl [6]) hat ermittelt, wie viel Jod von der Harnsäure in alkalischer Lösung verbraucht wird; die Harnsäure wurde in einem mässigen Überschuss von Normalkalilauge gelöst, mit einem ziemlich bedeutenden Überschuss von $^1/_{30}$ Normal-Jodlösung versetzt, mit Salzsäure übersättigt und das Jod mit Thiosulfat zurücktitriert. Wurde sofort zurücktitriert, so verbrauchte ein Mol. Harnsäure 3,5 At. Jod, nachdem aber das Jod auf die Harnsäure $^3/_4$ Stunden eingewirkt hatte, nur 2,3 At. Jod. Nach Ausfällen mit Chlorbarium soll die Harnsäure die einzige Substanz des Harns sein, welche Jod bindet [7]). Die Harnsäure reduziert auch Jodsäure [8]). Nach dem Wegkochen des freigewordenen Jods kann man die überschüssige Jodsäure mit Jodkalium zerlegen und durch Jodtitration mit Thiosulfat bestimmen.

n) Die von Gudzent behauptete Zersetzung der Harnsäure durch Radium-Emanation [9]) besteht nicht [10]).

o) Bei vorsichtiger Oxydation in saurer Lösung (durch kalte konzentrierte Salpetersäure, durch Chlor, Brom, Jod, durch Braunstein und Schwefelsäure), zerfällt die Harnsäure zu Alloxan und Harnstoff.

$$\begin{array}{l} HN-CO \\ \quad\dot{C}O\,\dot{C}-NH \\ H\dot{N}-\ddot{C}-NH \end{array}\!\!>CO + O + H_2O = \begin{array}{l} HN-CO \\ \dot{C}O\quad\dot{C}O \\ HN-\dot{C}O \end{array} + (NH_2)_2CO$$

Harnsäure. Alloxan. Harnstoff.

In der Wärme oxydiert sich das Alloxan weiter zu Parabansäure $CO<\begin{array}{l}HN-CO\\HN-\dot{C}O\end{array}$ und CO_2; bei der Einwirkung von Alkalien geht die Parabansäure unter Wasseraufnahme in Oxalursäure $\begin{array}{l}CO-NH\,.\,CO\,.\,NH_2\\ \dot{C}OOH\end{array}$ über, und diese kann weiter in Oxalsäure und Harnstoff zerfallen.

p) Versetzt man eine Lösung von Harnsäure in verdünnter Schwefelsäure (die mit Schwefelsäure übersättigte Lösung eines Urats) nach und nach mit verdünnter Permanganatlösung, so verschwindet anfangs

[1]) Neuberg, Bioch. Zeitschr. **29**. 290. 1910.
[2]) von Knaffl und Wiechowski, Zeitschr. f. ph. Ch. **77**. 323. 1912.
[3]) Scholz, B. B. **34**. 4130.
[4]) Schittenhelm und Wiener, Zeitschr. f. ph. Ch. **62**. 100. 1909.
[5]) Hugouneng, C. r. ac. **132**. 91. 1901.
[6]) J. Kreidl, a. a. O. 109.
[7]) Pariete de la Cruz, Münch. med. Wochenschr. 1910. 1029.
[8]) E. Riegler, Wiener med. Bl. **26**. 1903. 267.
[9]) Zeitschr. f. ärztl. Fortbildung 8. Nr. 7. 1911; Therapie d. Gegenw. Dez. 1910; Med. Kl. 1910. Nr. 42. — Mezernitzki, C. r. ac. des sc. **154**. 770. 1909. — Le Radium.
[10]) v. Knaffl und Wiechowski, Zeitschr. f. physiol. Ch. **77**. 303. 1912. — Lazarus und Korb, ebenda.

Digitized by Google

die Färbung des Permanganats augenblicklich, zuletzt tritt aber ein Punkt ein, bei welchem die Flüssigkeit rot wird, wenn auch nur auf ganz kurze Zeit. Blarez und Denigès[1]) haben ermittelt, dass die Menge Chamäleon, welche von einer bestimmten Menge Harnsäure verbraucht wird, in geringem Grade abhängt von dem Gehalt der Flüssigkeit an Schwefelsäure, wesentlich aber von der Konzentration der Harnsäurelösung; dieselbe Menge Harnsäure verbraucht in konzentrierter Lösung erheblich mehr Permanganat als in verdünnter. Konstant werden die Resultate, wenn nicht mehr als 0,1 g Harnsäure in 800 ccm Flüssigkeit gelöst ist; der Gehalt der Mischung an Schwefelsäure soll ungefähr 3,5 g (2 ccm konzentrierte Schwefelsäure auf 800 ccm) betragen. Die Temperatur ist ohne Einfluss auf die Reaktion. Unter diesen Bedingungen werden 7,4 mg Harnsäure durch 1 ccm $^1/_{10}$ normal Chamäleon zerstört (auf 1 Mol. Harnsäure 1,135 At. Sauerstoff), wobei die für die Endreaktion verbrauchte Chamäleonmenge nicht mitgerechnet ist.

Hopkins[2]) löste aus dem Harn gefällte Harnsäure (20—80 mg) in wenig Natriumcarbonat, füllte mit Wasser auf 100 ccm auf, setzte 20 ccm konzentrierte Schwefelsäure zu und titrierte mit Permanganat. Die Titrierung stimmte zu der Wägung unter der Annahme, dass 1 ccm $^1/_{10}$ normal Chamäleon 7,5 mg Harnsäure anzeigt. Bei Versuchen mit reiner Harnsäure hat Huppert gefunden, dass unter denselben Umständen durch 1 ccm der Chamäleonlösung nur 7,22 mg Harnsäure oxydiert werden. Die Chamäleonlösung war auf Eisen gestellt, Hopkins hat die seine durch Wägung des Permanganats bereitet.

Durch Permanganat in saurer Lösung soll die Harnsäure quantitativ zu Harnstoff oxydiert werden (Jolles[3])). Dies wird von Falta bestritten[4]).

q) Löst man Harnsäure in Salpetersäure oder Chlorwasser in der Wärme und verdunstet man die Lösung vorsichtig zur Trockene, so bleibt ein roter Rückstand, der dann auf Zusatz von Ammoniak schön purpurrot (purpursaures Ammon, Murexid), durch (nachträglichen) Zusatz von Kali- oder Natronlauge aber schön rötlich blau wird.

Man kann über freiem Feuer abdampfen, schöner fällt die Probe jedoch aus, wenn man im Wasserbade mit verdünnter Säure verdunstet, und den Verdampfungsrückstand neben Ammoniak unter eine Glocke stellt. Man verwende nur wenig Harnsäure. — Ist der Abdampfungsrückstand nur zitronengelb und nicht rot, so gibt er mit den Alkalien die Färbungen nicht, es hat dann an Salpetersäure gefehlt. Man übergiesst den Rückstand nochmals mit Salpetersäure und dampft wieder zur Trockne ein.

Eine Lösung von purpursaurem Ammon weist nach Krukenberg[5]) einen Absorptionsstreifen zwischen E u. F, eine solche von purpursaurem Natron einen Streifen zwischen D und b auf.

Die Murexidprobe kommt in folgender Weise zustande. Bei der Oxydation der Harnsäure mit verdünnter Salpetersäure (oder mit Chlorwasser) entsteht Alloxantin, welches als eine Verbindung von Alloxan mit Dialursäure $CO<\begin{matrix}HN-CO\\HN-CO\end{matrix}>CH.OH$ aufgefasst werden kann. Ammoniak führt die Dialursäure in Dialuramid

[1]) Ch. Blarez u. G. Denigès, Comptes rendus **104**. 789. 1887.

[2]) F. Gowland Hopkins, Journ. of Pathol. and Bacteriol. June 1893. 451.

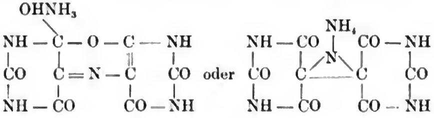
[3]) Zeitschr. f. ph. Ch. **29**. 239. 1900; B. B. **34**. 3787. 1901.

[4]) B. B. **34**. S. 2674, 3786, 1901.

[5]) Krukenberg, Verhandl. der physik. med. Gesellsch. zu Würzburg, N. F. **18**. 199. 1884.

Digitized by Google

$CO < \frac{HN - CO}{HN - CO} > CH\,.\,NH_2$ (Amidobarbitursäure, Uramil, Murexan) über. Die Purpursäure ist aber eine Verbindung von Alloxan und Dialuramid.



Die freie Purpursäure zerfällt mit Wasser sofort in Dialuramid und Alloxan. Weitere Literatur über das Murexid ist unten angegeben [1]).

r) Harnsäure gibt mit salpetriger Säure Stryphninsäure (Gibbs)

$$C_5H_4N_4O_3 + HNO_2 = C_4H_3N_5O_2 + H_2O + CO_2$$

oder Urinylsäure (und Glykolsäure) (Sokoloff)

$$2C_5H_4N_4O_3 + 3HNO_2 + N_2O_3 = C_8H_7N_7O_6 + HO\,.\,CH_2\,.\,COOH + 3N + 3NO_2.$$

s) Mit verdünnter roter rauchender Salpetersäure entwickelt Harnsäure nach Heinrich $\frac{1}{4}$ ihres Stickstoffs; mit salpetrigsaurem Kali und konzentrierter Essigsäure nach Emmerling in der Kälte so gut wie nichts, in der Wärme ungefähr $\frac{1}{3}$ ihres Stickstoffs; mit salpetrigsaurem Kali und verdünnter Schwefelsäure in der Wärme nach Kreusler [2]) 39,3 % ihres Stickstoffs.

t) Bei längerer Einwirkung von unterbromigsaurem Natron auf Harnsäure gibt sie nach Hüfner 47,1, nach Falck [3]) 47,8 % ihres Stickstoffs als Gas ab.

Bromhaltige Lösung von unterchlorigsaurem Natron nimmt mit Harnsäure eine intensiv rosenrote Färbung an, die nach einiger Zeit verschwindet (Dietrich [4]).

u) Bei 4stünd. Erhitzen von Harnsäure mit Phosphorsäure auf 150° treten nach Schöndorff [5]) 14,8 % Stickstoff, bei 230° 31,6 % als Ammoniak auf; sie enthält 33,3 % Stickstoff. Bei vierstünd. Erhitzen mit alkalischer Chlorbaryumlösung auf 230° liefert sie 3 Mol. Kohlensäure, gibt aber den Stickstoff nur unvollständig ab.

v) Beim Verbrennen der Harnsäure oder ihrer Salze entwickelt sich Blausäure.

w) Durch Chromsäure wird Harnsäure zu Harnstoff oxydiert [6]).

x) Beim Erhitzen mit Calciumformiat und Calciumhydroxyd im Rohre bis zur beginnenden Gasentwickelung wird Harnsäure nach E. Sundwick zu Xanthin reduziert [7]).

---

[1]) Liebig u. Wöhler, Ann. d. Ch. u. Ph. **26**. 254. 267, 319. 1838. — Fritzsche, ebena **32**. 316. 1839. — Gregor, ebenda **33**. 334. 1840. — Beilstein, ebenda **107**. 158. 1858. — Piloty u. Finckh, ebenda **333**. 22. 1904. — Möhlau u. Sitter, Journ. f. pr. Ch. **73**. 449. 1906.

[2]) F. Heinrich, Sachsses Phytochemische Untersuchungen **1**. 101. — A. Emmerling, Landwirtschaftl. Versuchsstation. **32**. 447. — U. Kreusler, das. **31**. 309.

[3]) Hüfner, Journ. f. prakt. Ch. [2] **3**. 21. — Falck, Pflügers Archiv **26**. 406.

[4]) Dietrich, Zeitschr. f. anal. Chem. **4**. 176.

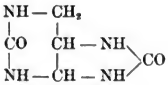
[5]) B. Schöndorff, Pflügers Archiv **62**. 29. 1895.

[6]) Tocher, Pharm. Journ. **15**. 161. 1902; Ch. Z. 1902. II. 827.

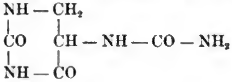
[7]) Sk. Arch. f. Ph. **25**. 156. 1911. vgl. auch Zeitschr. f. ph. Ch. **23**. 476; **26**. 131.

Digitized by Google

y) Die **elektrolytische Reduktion** der Harnsäure führt zu Puron [1])



oder bei Anwesenheit von starker Schwefelsäure zu Tetrahydroharnsäure [2]).



z) Die Harnsäure zersetzt sich auch unter der Einwirkung von **Mikroorganismen**.

Eine wässerige Lösung von freier Harnsäure hält sich nach Kreidl nur in sterilisiertem Zustand und unter Abschluss der Luftkeime; bei Zutritt solcher zersetzt sie sich aber in einigen Tagen. — Nach Fausto und Leone Sestini hält sich in Wasser suspendierte freie Harnsäure unter freiem Zutritt von Luft monatelang unverändert. Versetzt man die Flüssigkeit aber mit einigen Tropfen faulen Harns, so tritt im Sommer schnell Zersetzung ein. Bacillus (Micrococcus) ureae ist dabei besonders tätig, auch Bacillus fluorenscens scheint nicht ohne Einfluss zu sein. Zu einer schnellen Gärung ist eine höhere Temperatur (25° und darüber) und Lüftung erforderlich. Die Flüssigkeit nimmt von gebildetem Ammoncarbonat alkalische Reaktion an, es scheidet sich Ammonurat ab, zuletzt tritt aber aller Stickstoff der Harnsäure als kohlensaures Ammon auf. Alloxan wurde unter den Zersetzungsprodukten nicht aufgefunden. — Lange vorher hat H. Ranke bereits die Angabe gemacht, dass harnsaures Natron mit Bierhefe zwar bei 17° nach drei Wochen noch keine Spur von Zersetzung zeigt, bei 32° aber schon nach einigen Tagen in Zersetzung begriffen ist; in der Flüssigkeit liess sich Oxalsäure und Harnstoff nachweisen, und kohlensaures Ammon verflüchtigte sich in reichlicher Menge. Sehr wahrscheinlich waren auch hier die die unreine Hefe begleitenden Bazillen das wirksame. — Gérard [3]) hat ermittelt, dass sich unter den Mikroben (Kokken und Bakterien), welche Harnsäure in Natriumphosphatlösung schon bei gewöhnlicher Temperatur, schneller bei 30—32° zerlegen, solche vorfinden, welche aus der Harnsäure blos den Harnstoff abspalten, andere, welche den Harnstoff in kohlensaures Ammon überführen. Bei der Zersetzung tritt der ganze Stickstoff der Harnsäure als Harnstoff oder Ammoncarbonat auf; in dem stickstofffreien Spaltungsprodukt vermutet Gérard die Tartronsäure.

Ulpiani [4]) gelang die Reinzüchtung eines **Bacterium acidi urici**. Es wächst gut auf Boullion und Gelatine. Zugesetzte Harnsäure wird in wenigen Tagen vergoren, Harnsäurekrystalle verschwinden. Durch die Tätigkeit dieses Bacteriums wird die Harnsäure in zwei Moleküle Harnstoff zerlegt. Die hierbei freiwerdende dreigliederige Kohlenstoffkette wird von den Bakterien unter Kohlensäurebildung verwendet. Die Abspaltung des Harnstoffs stellt nur einen vorbereitenden Akt dar.

---

[1]) J. Tafel u. Percy Housmann, B. B. **40**. 3743. 1907.

[2]) Tafel, B. B. **34**. 258. 1901.

[3]) J. Kreidl, a. a. O. 111. — F. u. L. Sestini, Landwirtschaftl. Versuchsstationen **38**. 157. 1891. — H. Ranke, Journ. f. prakt. Ch. **56**. 15. 1852. — E Gérard, Comptes rendus **122**. 1019; **123**. 185. 1896.

[4]) Atti della R. ac. dei linc. Roma **12**. 236. 1903. — Ulpiani u. Cingolani, Gaz. chim. ital. **34**. 377. 1905; Rend della soc. ch. di Roma 1904. 140.

Digitized by Google

z) 1. Schliesslich wird die Harnsäure durch ein im Säugetierorganismus verbreitetes Ferment (Uricooxydase, Uricase) zerlegt[1]). Über die Verteilung desselben auf die einzelnen Organe s. S. 927. Die Harnsäure wird durch dieses Ferment quantitativ zu Allantoin oxydiert[2]). Fettige Degeneration der betreffenden Organe (Leber des Hundes z. B.) infolge von Vergiftungen, beeinträchtigt die Wirksamkeit des Ferments nicht[3]). Die Organe von hungernden Tieren haben ein kleineres Harnsäureoxydationsvermögen[4]). Den Organen des Menschen fehlt die Uricooxydase, alle Angaben, dass die menschlichen Organe Harnsäure zu zerstören imstande wären, haben sich als irrtümlich erwiesen[5]). Insbesondere gilt das auch vom Menschenblut[6]). Dagegen hat die Leber der Fische (Selachier) ein sehr bedeutendes Harnsäurezerstörungsvermögen[7]).

Verhalten der Harnsäure im Harn: Aus feurig gelben bis roten sauren Harnen scheidet sich beim Stehen derselben nach der Entleerung häufig ein lehmgelbes bis lebhaft rosenrotes Sediment ab, welches im Anfang den ganzen Harn homogen trübt und sich nur langsam (im Verlauf von Stunden, selbst Tagen) zu Boden setzt. Bei gewissen fieberhaften Affektionen (Pneumonie, Rheumatismus) ist es gewöhnlich; es entsteht aber auch in konzentrierten normalen Harnen (Sedimentum lateritium). Nach purinreichen Mahlzeiten kommt es fast stets vor, ebenso nach Einnahme von Atophan. Doch findet es sich bei wiederholter Einnahme nur nach den ersten Dosis im Harne. Häufig wird der Harn hierbei schon trüb entleert.

Auch solcher Harn, welcher spontan kein Sediment absetzt, liefert beim Abkühlen noch ein Uratsediment, und wo dies nicht der Fall ist, geschieht die Abscheidung noch, wenn man nach Roberts den Harn im Wasserbad auf ein kleines Volumen eindampft, heiss filtriert und das Filtrat in Eis stellt.

Nur aus Eiweissharn erhält man nach Zoja[8]) durch Abkühlen kein Uratsediment.

Das aus saurem Harn abgeschiedene Sediment besteht nach Roberts wesentlich aus Quadriurat; nach den Analysen von Heintz, Scherer, sowie Bence Jones kann es alle im Harn vorkommenden anorganischen Basen (Ammoniak, Natron, Kali, Kalk, Magnesia) enthalten. Neben dem Quadriurat tritt häufig auch Kalkoxalat auf. Das Salz zersetzt sich leicht, namentlich in Berührung mit Wasser, in Biurat, welches in Lösung geht, und in Harnsäure, welche in grossen,

[1]) Stokvis, Nederl. Tijdschr. voor Geneeskunde 1858. — Chassevant u. Richet, C. r. soc. biol. 1897. 743. — Ascoli, Pflügers Archiv **72**. 340. 1898. — M. Jakoby, Virchows Archiv **157**. 235. 1899. — H. Wiener, Arch. f. exp. Path. u. Ph. **42**. 375. 1899. — Wiechowski u. Wiener, Hofmeisters Beitr. z. ch. Ph. u. Path. **9**. 247. 1907.

[2]) W. Wiechowski, Hofmeisters Beitr. z. ch. Ph. u. Path. **9**. 295. 1907. Acroid, Bio-chemical Journ. Vol. V. 217. 1910.

[3]) Gideon Wells, Journ. of exp. Med. **12**. 609. 1910.

[4]) Lauder, Brunton u. Bockenham, Zentralbl. f. Phys. **19**. 1. — G. Izar, Zeitschr. f. ph. Ch. **73**. 317. 1911.

[5]) W. Wiechowski, Arch. f. exp. Path. u. Ph. **60**. 185. 1909. — Batelli u. Stern, Bioch. Zeitschr. **19**. 219. 1909. — Miller u. Jones, Zeitschr. f. ph. Ch. **62**. 396. 1909. — Gideon Wells u. Corper, Journ. of biol. Ch. **6**. 321. 1909. — Schittenhelm, Zeitschr. f. ph. Ch. **63**. 248. 1909.

[6]) G. Klemperer, Ther. d. Gegenw. 1901. 344. — Leyden, Festschr. II. 195; Zentralbl. f. inn. Med. **25**. 1289. 1904. — Brugsch u. Schittenhelm, Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther. **4**.

[7]) Scoffidi, Bioch. Z. **18**. 506. 1909. **25**. 296. 1910.

[8]) Arch. it. di cl. med. **32**. 11. 1893.

Digitized by Google

gefärbten Krystallen zurückbleibt (Bence Jones, Roberts). In ammoniakalischem Harn besteht das Uratsediment aus krystallinischem Ammonbiurat (Taf. II, Fig. 3).

Keineswegs immer fällt die Harnsäure als Quadriurat aus, häufig tritt auch die Harnsäure sogleich frei auf in den beschriebenen Formen. Alle Harne, welche kein Quadriurat absetzen, scheiden freie Harnsäure ab.

Das Uratsediment bildet feine Körnchen, die haufenweise bei einander liegen (Taf. II. Fig. 2). Erfolgt seine Ausscheidung in hydratischer Form, wie beim Harnsäureinfarkt der Neugeborenen, im frischen Vogel- oder Schlangenkot, so bildet es durchscheinende, radiär gestreifte Kugeln. Es löst sich beim Erwärmen des Harns schon unterhalb der Siedetemperatur wieder vollständig auf. Auf Zusatz einer Säure verschwinden die Körnchen und nach einiger Zeit treten an ihre Stelle Krystalle von Harnsäure.

Die Zersetzung desselben durch Wasser unter Abscheidung von Harnsäure lässt sich auch unter dem Mikroskop beobachten. In Berührung mit Wasser liefert es nach Roberts [1]) bald etwas mehr, bald etwas weniger Harnsäure, als der Formel des Quadriurats entspricht, was darin seinen Grund haben soll, dass sich ihm aus saurem Harn Harnsäure, aus minder saurem Biurat amorph beimischen.

In einem Harn, der ein Uratsediment enthält und nachträglich ammoniakalisch geworden ist, kann man das harnsaure Ammon noch neben den Körnchen des Quadriurats und der Harnsäure antreffen.

Das Quadriurat im Harninfarkt der Neugeborenen ist nach Flensburg in eine hyaline Eiweissubstanz, wahrscheinlich mucinähnliche Substanz, eingelagert. — Nur der Vogelharn kommt im unzersetzten Zustande zur Beobachtung, so dass sich die hydratischen Kugeln des Quadriurats leicht wahrnehmen lassen; auch hier begleitet eine schleimige Substanz das Urat. Der Schlangenharn verweilt nach Roberts [2]) 1—7 Wochen im Leibe der Schlangen und kommt daher zersetzt zum Vorschein. Nach einer Untersuchung von Roberts enthielt der Vogelharn Ammoniak und hinterliess 8,68 % Asche, hauptsächlich Kalium und Natrium, eine Spur Eisen, geringe Spuren Calcium, Kieselsäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure. Der Schlangenkot reagiert sauer und enthält neben Quadriurat etwas freie Harnsäure; in feuchtem Zustand wird er leicht zu Ammonbiurat. Roberts fand in demselben 82,88 % Harnsäure, 3,33 % Kali, 1,06 % Natron, 1,92 % Ammoniak und 10,83 % Wasser, andere organische Substanz, Eisen, Spuren Kalk. Als Quadriurat waren 80,71 % der Harnsäure vorhanden, als freie 2,09 %.

Ein eigentümliches Sediment, welches vielleicht aus Calciumurat bestand, hat Delepine [3]) manchmal neben Calciumoxalat, auch bei Gicht, beobachtet. Es bildet selbst in heissem Wasser unlösliche, farblose, prismatische Krystalle vom Aussehen des Natriumbiurats, gibt die Murexidreaktion und zersetzt sich mit Salzsäure schwerer als das gewöhnliche Uratsediment. Die Krystalle entstehen auch beim Behandeln von Harnsäure oder Uratsediment mit Kalkwasser oder hartem Wasser.

Nach den Untersuchungen von Tunnicliffe und Kohler bestehen die Quadriurate als Verbindungen nicht (s. o. S. 1016). Man hat es also in den erwähnten Fällen entweder mit der Abscheidung von reiner Harnsäure oder mit der Abscheidung eines Gemisches von Harnsäure und Biurat zu tun. Auch die Uratsteine der Blase und der Nieren

[1]) Sir W. Roberts, On the chemistry and therapeutics of Uric Acid Gravel and Gout. London 1892. 27.

[2]) C. Flensburg, Nord. med. Arkiv, 1894; Jahresb. f. Tierch. 1893. 581. — Roberts, a. a. O. 20.

[3]) S. Delepine, Journ. of Physiol. 8. II. 1887.

Digitized by Google

sind Gemenge von Biuraten und Harnsäure. Doch kommen auch Konkremente vor, die nur aus harnsaurem Ammoniak bestehen.

Die Abscheidung der freien Harnsäure aus Harn geht nach Roberts um so früher zu Ende, je früher sie anfängt. Zeigt sich die erste Harnsäure innerhalb 24 Stunden nach der Entleerung, so ist die Abscheidung in einigen Stunden beendet; beginnt sie erst nach einer Woche oder später, so dauert sie einige Tage. Der Harn enthält dann keine durch Salzsäure fällbare Harnsäure mehr. Wie aus den Zahlen von Zerner [1]) hervorgeht, erfolgt die Ausscheidung der freien Harnsäure bei jedem Verhältnis zwischen einfach und zweifach saurem Urat. Sie wird nach Roberts beschleunigt durch einen hohen Gehalt des Harns an Harnsäure, verzögert, wie es scheint, durch die Harnfarbstoffe.

Nach Voit und Hoffmann [2]) nimmt die Acidität des Harns mit dem Ausfallen des Uratsediments ab. Nach denselben Autoren soll sich das Uratsediment in dem Harn, aus welchem es ausgefallen ist, nicht wieder bei Bluttemperatur auflösen. Dieser Angabe stehen neuere Beobachtungen entgegen. Jedenfalls tritt Lösung ein, wenn man den Harn einige Stunden auf 40—45° erwärmt.

Filtriert man Harn durch ein Filter, auf welchem sich Harnsäure befindet, so kann man ihm, wie Pfeiffer zuerst gezeigt hat, die Harnsäure so weit entziehen, dass Salzsäure keinen Niederschlag mehr gibt. Bei Gicht und bei Steinkrankheit genügt dazu nach Pfeiffer 0,5, selbst nur 0,2 g Harnsäure; bei Gesunden sind 2—3 g erforderlich. Wieviel von der Harnsäure des Harns beim Filtrieren durch Harnsäure ausfällt, hängt nach Roberts [3]) ab von der Acidität des Harns, dem Gehalt des Harns an Harnsäure, der Schnelligkeit des Filtrierens und der Menge des Harns.

Das Auftreten der Harnsäuresedimente hängt mit den besonderen Löslichkeitsverhältnissen der Harnsäure im Harn zusammen. In die Niere gelangt die Harnsäure als Biurat. Im Harn befindet sich die Harnsäure in einer Flüssigkeit von wechselnder, aber meist höherer Acidität als das Blut ist. Von dem wahren Grade dieser Acidität der Dissoziationskonstante der Harnsäure und dem Dissoziationsgrade ihrer Salze wird es abhängen, wie viel Harnsäure als Biurat und wie viel als freie Harnsäure im Harn vorhanden ist. Biurat sowohl als freie Harnsäure werden ausfallen, sobald ihr Löslichkeitsprodukt im Harn überschritten ist. Abgesehen von der Konzentration und Temperatur wird das Ausfallen von Na-Urat durch einen reichlichen Gehalt des Harns an Natriumsalzen, das der freien Harnsäure durch eine hohe Acidität des Harns befördert werden. Die normale Acidität des Harns wird durch das zweifachsaure Natriumphosphat bedingt, welches zwar eine schwächere Säure als Harnsäure ist, aber infolge seiner weitaus grösseren Menge fällend wirken kann. Harne werden also dann besonders zur Sedimentbildung neigen, wenn sie viel Harnsäure, reichlich Natriumsalze enthalten und sauer sind. Vermindert wird die

[1]) Sir Roberts, a. a. O. 39. — Th. J. Zerner, Wien. klin. Wochenschr. 1893. 272.

[2]) Sitzungsber. d. k. bayr. Akad. d. Wissensch. 1867. 2. 279; Zeitschr. f. anal. Ch. 7. 397.

[3]) E. Pfeiffer, Verhandl. des V. Kongresses f. inn. Med. 1886. 445; des VII. Kongr. 1888. 326; des VIII. Kongr. 1889. 172. — Sir Roberts, Lancet Jan. 4. 1890; Jahresb. f. Tierch. 1891. 403; a. a. O. 43.

Digitized by Google

Neigung zur Bildung von Uratsedimenten durch einen geringen Gehalt an Harnsäure, viel Harnwasser, wenig Natriumsalze und niedrige Acidität (alkalische Reaktion). Nach dem oben Ausgeführten muss in Uratlösungen immer das jeweils am schwersten lösliche Urat ausfallen. Im normalen, nicht zersetzten Harne wäre das das Magnesiumbiurat, im zersetzten, ammoniakalischen Harne das Ammonurat. In letzterer Form ist die Harnsäure auch stets im Sedimente solcher Harne vorhanden. Mit diesen Verhältnissen hängt auch die Löslichkeit des Harns für Harnsäure zusammen. Bringt man in einen Harn Harnsäure in Substanz und lässt einige Zeit einwirken, so löst sich entweder ein Teil der zugesetzten Harnsäure oder es fällt aus dem Harn noch Harnsäure aus oder es geschieht nichts. Hindhede[1]) hat in dieser Weise den menschlichen Harn bei verschiedener Ernährung untersucht. Im allgemeinen ging das Lösungsvermögen des Harns für Harnsäure seiner titrierbaren Acidität reziprok, doch kamen gelegentlich erhebliche Ausnahmen vor. Die wahre Acidität wurde nicht bestimmt, so dass man über die Bedeutung der erwähnten Ausnahmen nichts aussagen kann. Am meisten Harnsäure löste der Harn bei reiner Kartoffelkost. Bei ausschliesslicher Brotnahrung oder bei reichlich Fleisch in der Nahrung war das Lösungsvermögen negativ, d. h. bei dem Versuche wurde nicht nur keine Harnsäure gelöst, sondern es fiel sogar solche aus dem Harn aus.

In ähnlicher Weise ist das Verhalten von Substanzen, welche dem Harne zugesetzt werden, auf die Löslichkeit der Harnsäure zu beurteilen. Nach dem, was oben bei der Besprechung der Urate ausgeführt worden ist, müssen alle jene Substanzen, welche im Glase die Harnsäure leicht lösen, indem sie mit ihr leicht lösliche Salze bilden, als solche im Harne wenig wirksam oder unwirksam sein, weil dieser stets Kationen enthält, welche schwerer lösliche Urate bilden. Nach W. Orlowski[2]) lösen 0,5%ige wässerige und 0,5%ige harnige Lösungen der folgenden Substanzen Harnsäure:

	100 ccm wässeriger Lösung:	100 ccm harnige Lösung:
Uricedin (ein Gemenge pflanzensaurer Alkalien)	0,0266	0,000
Urotropin	0,09	0,000
Natriumbikarbonat	0,295	es fällt Urat aus
Piperazin	0,4934	0,042
Lysidin	0,968	0,101

Reichlicher Alkalizusatz wird natürlich die Sedimente in Lösung bringen. Anders ist das Verhalten des Formaldehyds, da dieser sich mit der Harnsäure zu einer leicht löslichen Verbindung addiert. Uratsedimente lösen sich im Harn nach Zugabe von 1—2% Formol, auf Ansäuern erfolgt keine Fällung von Harnsäure[3]). Im Harn entsteht wahrscheinlich die Monoformylverbindung[4]).

[1]) Sk. Arch. f. Phys. **26**. 384. 1912.
[2]) Przeglad lekarski **39**. 239. 1900; Zeitschr. f. klin. Med. **40**. 331. 1900.
[3]) Nikolaier, Zeitsch. f. klin. Med. **38** 373. 1899.
[4]) Nikolaier, Arch. f. klin. Med. **89**. 168. 1907.

Digitized by Google

Zur Behandlung der harnsauren Diathese, welche durch eine erhöhte Neigung des Harns zur Sediment- und Konkrementbildung innerhalb der Harnwege gekennzeichnet ist, wird man, abgesehen von jenen Massnahmen, welche die Menge der ausgeschiedenen Harnsäure herabsetzen sollen (purinarme Diät), von den oben erläuterten Löslichkeitsverhältnissen der Harnsäure im Harn geleitet, alle Versuche, die Lösungsfähigkeit des Harns durch Zufuhr von Lithiumsalzen oder organischen Basen zu steigern als ganz zwecklos beiseite lassen und nur dafür sorgen, dass der Harn verdünnt und wenig sauer sei. Das letztere aber durch Zufuhr von vielen Alkalien (kohlen- oder pflanzensauren) zu erzielen, ist deshalb unzweckmässig, weil dadurch der Harn an Kationen sehr reich wird, was allemal seine Lösungsfähigkeit für Urate herabsetzen muss. Da die Acidität des Harns zum grössten Teil durch die Phosphorsäure bedingt ist, wird man das Ziel am besten dadurch erreichen, dass man die Phosphorsäureausscheidung im Harn herabsetzt. Das gelingt leicht durch Einnahme von Calciumcarbonat, welches einen grossen Teil der Phosphorsäure im Darm fixiert und so von der Niere ablenkt. Da ein Teil der zirkulierenden Kalksalze stets in den Darm ausgeschieden wird und die Phosphorsäure immer mit dem Kalk geht, so wird auch das essigsaure Calcium so wirken müssen und einen Teil der zirkulierenden Phosphorsäure von der Niere weg in den Darm leiten, aus welchem es mit dem Kot entfernt wird. In der Tat sinkt die Phosphorsäureausscheidung im Harn nach Gaben von Calciumcarbonat und die Lösungsfähigkeit des Harns für Harnsäure nimmt zu[1]).

Hierin liegt eine Erklärung der Wirkung erdiger Quellen bei diesen Zuständen. Nach Röse (l. c.) soll schwefelsaurer Kalk ähnlich wirken. Weiter kann man von dem erwähnten Verhalten des Formaldehyds Gebrauch machen. Nach Nikolaier[2]) geht eingenommenes Urotropin in den Harn über und kann durch freiwerdenden Formaldehyd Harnsäure unter Bildung der beschriebenen Formylverbindungen lösen. Dass Mineralwasserkuren anderer Art, im Sinne der auf S. 1009 erwähnten indirekten Beeinflussung auch auf das Lösungsvermögen des Harns für Harnsäure wirken können, ist durchaus denkbar.

Abgesehen von der Lösungsfähigkeit des Harns für Harnsäure, welche aus seinem Gehalt an Salzen und seiner Acidität hervorgeht, welche also im wesentlichen durch ein bestimmtes Elektrolytgleichgewicht[3]) im Harn beherrscht wird, hat der Harn aber noch als solcher die Fähigkeit, die Harnsäure besser zu lösen als Wasser. Nach Zusatz von Salzsäure zu Harn bleibt mehr Harnsäure in Lösung als das Harnwasser lösen kann, auch wenn man den Harn nach His und Paul längere Zeit schüttelt[4]). Nach Rüdel ist hiefür der Harn-

---

[1]) v. Noorden, Lehrbuch der Path. d. Stoffwechsels 1893. — v. Noorden-Strauss, 14. Kongr. f. inn. Med. Wiesbaden 1896. — J. Strauss, Zeitschr. f. klin. Med. **31**. 1897. — G. Herxheimer, Berliner klin. Wochenschr. 1897. Nr. 20. — C. Röse, Veröffentlichungen d. Zentralstelle für Balneologie. H. 9.

[2]) Arch. f. klin. Med. 81. 181. 1905.

[3]) Fr. Mc. Crudden, Journ. am. ch. soc. **26**. 280. 1904. Ch. Zeitschr. 1904. II. 1339.

[4]) A. Nikolaier und Dohrn, Deutsches Archiv f. klin. Med. **91**. 151. 1907.

Digitized by Google

stoff verantwortlich zu machen, nach Klemperer das Urochrom[1]). Eine Lösung von reinem Urochrom löst Harnsäure besser als Wasser. Nach Lichtwitz[2]) spielen Kolloide hierbei eine ausschlaggebende Rolle. Dass die Kolloide die Löslichkeit von Harnsäure und Uraten beeinflussen, geht auch aus den Untersuchungen von Bechhold und Ziegler hervor[3]). Nach Taylor löst eine reine Globulinlösung fünfmal soviel Harnsäure als Wasser und 8 Wochen lang dialysiertes Blutserum löst nach Pauli und Samec rund 1,5 mal soviel Harnsäure als Harn[4]). Auf diese spezifische Harnlöslichkeit der Harnsäure sind auch jene Fälle zurückzuführen, welche zeigen, dass das Ausfallen von Uratsedimenten[5]) und die Löslichkeit der Harnsäure im Harn nicht ausschliesslich von der Acidität des Harns abhängen (Hindhede, l. c.).

Während die Harnsäure aus wässerigen Lösungen durch Chlorbarium quantitativ gefällt wird (S. 1021)[6]), wird die Harnsäure des Harns durch Bariumchlorid nicht gefällt (S. 1028)[7]).

Beobachtungen über die Zersetzlichkeit der Harnsäure im steril aufbewahrten Menschenharn habe ich noch nicht abgeschlossen. Es scheint, dass die Harnsäure im Harn beständiger ist, als in reiner wässeriger Lösung.

Darstellung. Zur Darstellung im grossen lässt sich der Harn schon darum nicht verwenden, weil er viel zu arm an Harnsäure ist. Es eignen sich dazu nur Schlangenexkremente und Guano.

1. Aus Schlangenexkrementen. Die gepulverten Exkremente werden nach Bensch[8]) in 5proz. Kalilauge gelöst und so lang damit gekocht, bis der Geruch nach Ammoniak verschwunden ist. Darauf leitet man durch die filtrierte Lösung einen lebhaften Strom Kohlensäure, bis der anfangs gallertige Niederschlag körnig und die Flüssigkeit beinahe neutral geworden ist. Der so entstandene Niederschlag von saurem Kaliumurat wird mit Wasser gewaschen, bis das Waschwasser in der zuerst abgelaufenen Lauge eine Trübung hervorruft. Man löst das Salz in verdünnter Lauge und giesst es noch heiss in überschüssige Salzsäure. Das Verfahren lässt sich auch auf Hühner- oder Taubenkot anwenden. — Ist die Lösung des Urats in Lauge noch stark gefärbt, so behandelt man diese zweckmässig nochmals mit Kohlensäure; die aus diesem zweiten Niederschlag abgeschiedene Harnsäure ist dann nur noch schwach gelb, aber für die meisten Zwecke genügend rein. — Auch die käufliche Harnsäure muss, wenn sie nicht bloss aus Krystallen besteht, diesem Reinigungsverfahren unterworfen werden; die Ausbeute beträgt nur ungefähr 50 %. Es wird sich lohnen, die in Lösung gebliebene Harnsäure durch Eindampfen zu gewinnen. Über die Gewinnung ganz reiner Harnsäure s. o. bei der Darstellung der Urate.

2. Aus Guano. Peru-Guano wird so oft mit Kalkmilch und Wasser ausgekocht, als der Auszug noch gefärbt ist, der bleibende Rückstand dann so lange mit kohlensaurem Natron ausgekocht, bis das Filtrat mit Salzsäure keinen Niederschlag mehr gibt. Die gesamte Lösung wird zuerst mit essigsaurem Natron, dann bis zur sauren Reaktion mit Salzsäure versetzt, der aus Harnsäure und Guanin

[1]) 20. Kongr. f. inn. Med. 1902. 219.

[2]) Zeitschr. f. ph. Ch. **64**. 144. 1910.

[3]) Bioch. Zeitschr. **24**. 146. 1910.

[4]) Journ. biol. Ch. **1**. 177. 1907. — Pauli u. Samec, Bioch. Zeitschr. **17**. S. 242. 1909.

[5]) Smith Jerome, Journ. of Phys. **23**. 315. — Zur Lösungsfähigkeit des Harns für Harnsäure vgl. auch Singer, Deutsche Ärzte-Zeitung 1903. 505.

[6]) N. Chr. Geelmuyden, Zeitschr. f. analyt. Ch. **31**. 166. 1892.

[7]) Pariete de la Cruz, Münch. med. Wochenschr. 1910. 1029.

[8]) A. Bensch, Ann. d. Ch. u. Pharm. **54**. 190. 1845.

Digitized by Google

bestehende Niederschlag ausgewaschen und darauf mit mässig verdünnter Salzsäure ausgekocht, wobei das Guanin in Lösung geht, die Harnsäure aber grösstenteils zurückbleibt (Strecker[1])).

Als farblos ist eine Harnsäure nur dann zu bezeichnen, wenn ihre Lösung in Lauge oder die abgeschiedene freie Harnsäure farblos erscheint. Das saure Urat aus noch gelber Säure ist oft schneeweiss. Aus dem Harn abgeschiedene Harnsäure nach dem Verfahren von Bensch (S. 1037) völlig von Farbstoff zu befreien, scheint kaum möglich; die Säure behält immer einen Stich ins Bräunlichgelbe. Auch bleibt viel Harnsäure in der Bicarbonatlauge gelöst; um den ganz erheblichen Verlust zu vermeiden, dampft man diese zur Trockne ein und behandelt den Rückstand mit Wasser, welches den Farbstoff aufnimmt und das Urat wenig gefärbt zurück lässt. Dieses Urat verarbeitet man mit dem durch Kohlensäure niedergeschlagenen Anteil. Gössmann entfärbt die kochende Lösung der Harnsäure in Natronlauge mit wenig Permanganat und fällt das Filtrat mit Salzsäure. Gibbs[2]) kocht die alkalische Lösung kurze Zeit mit 5 % der Harnsäure an Kaliumbichromat, schüttelt das Filtrat mit Tierkohle, fällt mit Salzsäure und kocht die Harnsäure zuletzt wiederholt mit starker Salzsäure aus. Die Lösung lässt sich auch durch Natriumamalgam entfärben (Hlasiwetz). Ganz rein erhalt man die Harnsäure, wenn man ihr Sulfat (S. 1023) so oft aus konzentrierter Schwefelsäure (durch Lösen in Wasserbadwärme und Erkaltenlassen) umkrystallisiert, bis sich die Schwefelsäure nicht mehr färbt, das Salz dann mit Wasser zersetzt und die Schwefelsäure wegwäscht, doch wird man nur selten in die Lage kommen, dieses umständliche Verfahren, gegenüber dem von Bensch, einzuschlagen.

Vom Erythrin der ziegelroten Sedimente lässt sich die Harnsäure nach Zoja befreien, wenn man eine Lösung des Sediments in heissem Wasser mit Amylalkohol schüttelt, beim Erkalten krystallisiert die Harnsäure farblos aus.

3. Aus Harn. Die Darstellungsweisen der Harnsäure haben wesentlich nur für den Nachweis und vor allem für die quantitative Bestimmung der Harnsäure im Harn Bedeutung.

a) Man versetzt eiweissfreien Harn mit $^1/_{10}$—$^1/_{20}$ Vol. konzentrierter Salzsäure oder Essigsäure und lässt 24—48 Stunden stehen. Die Harnsäure setzt sich dabei in meist sehr gefärbten Krystallen am Boden und an der Wand des Gefässes ab.

Auf diese Weise erhält man nicht alle Harnsäure, aus manchen Harnen auch gar keine. Aus Hundeharn fällt die Harnsäure gemischt mit Kynurensäure und ist von dieser nach Meissner und Shepard (S. 875) zu trennen.

b) Man löst nach Jaffé in Harn bis nahe zur Sättigung fein gepulverte Pikrinsäure (1 g auf 150 ccm Harn) oder versetzt je 100 ccm Harn mit 20 ccm einer 5proz. alkoholischen Pikrinsäurelösung, wäscht den Niederschlag erst mit wässeriger Pikrinsäurelösung, dann mit Alkohol, trocknet einigermassen, kocht den Niederschlag mit einer mässigen Menge 3—6fach verdünnter Salzsäure und schüttelt nach dem Erkalten die Pikrinsäure mit Äther aus. Aus der wässerigen Lösung scheidet sich die Harnsäure binnen mehreren Stunden vollständig aus. Sehr zweckmässig ist die Verwendung von Magnesiumpikrat, welches sich in grosser Menge im Harn auflöst.

c) Der Harn wird nach E. Ludwig[3]) gleichzeitig mit Magnesiamischung und ammoniakalischer Silberlösung gefällt, der Niederschlag mit Hilfe der Wasserluftpumpe mit ammoniakhaltigem Wasser ge-

[1]) Strecker, Ann. d. Ch. u. Pharm. **118**. 152.

[2]) Gössmann, Ann. d. Ch. u. Pharm. **99**. 374. — W. Gibbs, Zeitschr. f. Ch. [2] **5**. 729. 1869.

[3]) E. Ludwig, Anzeiger der k. Akademie d. Wissensch., mathem. naturw. Kl., 18. 92. 1881; Zeitschr. f. anal. Ch. **21**. 148; Wiener med. Jahrb. **1884**. 599; Zeitschr. f. anal. Ch. **24**. 637.

Digitized by Google

waschen, durch Erwärmen mit einer Lösung von Einfach-Schwefelalkali zerlegt, die Lösung filtriert und das Filtrat nach dem Ansäuern mit Salzsäure auf ein kleines Volumen eingedampft. Die Harnsäure fällt dabei krystallinisch aus.

Von beigemengtem Schwefel befreit man sie durch Waschen mit Schwefelkohlenstoff und verdrängt diesen zuletzt mit Äther. Der Harn muss eiweissfrei sein, darf aber Albumose enthalten. Durch die Silberlösung werden auch die Xanthinbasen gefällt, aber zuletzt von der Salzsäure wieder gelöst. Das Verfahren ist dem unter 3. a. beschriebenen bei weitem vorzuziehen, da man mit demselben alle Harnsäure aus dem Harn fällt und sich so auch noch sehr geringe Mengen Harnsäure nachweisen lassen.

Salkowski[1]) hat zuerst gezeigt, dass sich die der Fällung durch Säure entgehende Harnsäure aus dem Filtrat noch durch ammoniakalische Silberlösung gewinnen lässt und Maly hat nachgewiesen, dass der dabei entstehende Niederschlag ein Doppelsalz der Harnsäure mit Silber und einer zweiten Basis ist. Ludwig hat das Verfahren insofern vereinfacht, als er die gesamte Harnsäure auf einmal als Silber-Magnesiasalz fällt.

Die Magnesiamischung und die ammoniakalische Silberlösung werden vor dem Zusatz zu dem Harn gemischt und falls ein Niederschlag von Chlorsilber entsteht, dieser durch Ammoniak in Lösung gebracht. Entsteht dabei ein flockiger Niederschlag (von Magnesiumhydrat), so kann man diesen wieder durch Salmiak lösen. Mit dem Urat fällt zugleich viel Tripelphosphat, was beabsichtigt ist, da es das Auswaschen des sonst gelatinösen Niederschlags erleichtert. Das Schwefelalkali muss aus salpeterfreiem Alkalihydrat bereitet werden, weil sich sonst beim Ansäuren des Filtrats vom Schwefelsilberniederschlag mit Salzsäure Chlor entwickelt, welches Harnsäure zerstört. Die Digestion des Harnsäureniederschlags mit dem (alkalihydrathaltigen) Einfach-Schwefelalkali darf nicht über die zur Zersetzung des Silberniederschlages erforderliche Zeit hinaus ausgedehnt werden, weil dabei sonst ein merklicher Verlust von Harnsäure eintritt. Zur Darstellung der Harnsäure kann man sich derselben Lösungen bedienen, welche für die quantitative Bestimmung der Harnsäure nach der angeführten Methode vorgeschrieben werden.

Ist wie im Hunde- und Kaninchenharn oft sehr wenig Harnsäure zugegen, so empfiehlt es sich, den Harn vorher in der auf S. 1023 beschriebenen Weise mit Phosphorwolframsäure zu reinigen. Statt mit Schwefelalkali den Silbermagnesianiederschlag zu zersetzen, ist es empfehlenswerter, ihn mit Schwefelwasserstoff zu zerlegen und dann die Flüssigkeit samt dem meist kolloiden Silbersulfür zur Trockene zu verdampfen. Die Harnsäure hinterbleibt dann als Magnesiumsalz und kann dem Rückstand als solche vollständig mit heissem Wasser entzogen werden. Auch empfiehlt es sich, um die ebenfalls zersetzend wirkende Salpetersäure zu vermeiden, die ammoniakalische Silberlösung nicht aus Silbernitrat, sondern aus — Oxyd, Chlorid oder — Acetat herzustellen. Das Filtrat und die Waschwässer werden nach dem Ansäuern mit Salzsäure eingeengt, hierbei fällt die Harnsäure krystallisiert aus.

d) Sättigt man den Harn mit Chlorammon, so fällt, wie Hopkins[2]) zuerst nachwies, alle Harnsäure als Ammonurat aus (3. a., S. 1020). Man löst den Niederschlag in heissem Wasser, fügt reichlich Salzsäure hinzu und lässt, wenn die Lösung verdünnt war, nach dem Einengen, erkalten, wobei die Harnsäure meistens gefärbt auskrystallisiert. Ein Teil des Farbstoffes lässt sich mit Alkohol wegwaschen.

Zum Sättigen des Harns genügt, wenn man auf 100 ccm 30 g Salmiak in demselben auflöst; darnach muss der Harn noch zwei Stunden stehen, wenn man sicher alle Harnsäure abscheiden will. Mit der Harnsäure fällt auch Xanthin,

[1]) Salkowski, Virchows Archiv 52. 60. 1871.

[2]) F. Gowland Hopkins, Guy's Hosp. Reports 48. 299. 1891; Chem. Zentralblatt 1892. 2. 269.

Digitized by Google

welches bei der Behandlung des Niederschlags mit Salzsäure in Lösung bleibt. — Auch aus Hundeharn kann man auf diese Weise die Harnsäure gewinnen. — Sättigen des Harns mit Ammonsulfat schlägt die Harnsäure als Ammonurat nach Garrod und Hopkins[1]) ebenso vollständig nieder, wie Salmiak, aber langsamer und noch minder rein. Die Fällung durch Ammonsalze soll bei alkalischer Reaktion vorgenommen werden (Zusatz von Ammoniak) weil sie sonst nicht immer vollständig ist.

e) Zur Darstellung der Harnsäure lässt sich auch nach Krüger und Wulff[2]) die Unlöslichkeit ihrer Kupferoxydulverbindung verwenden (S. 1022). Man versetzt den kochenden Harn mit einer Kupfervitriol- und einer Natriumbisulfitlösung, wozu auf das Liter Harn 50 ccm gesättigter Kupfervitriollösung und 25 g Bisulfit genügen, kocht noch einmal auf und wäscht den Niederschlag nach zweistündigem Stehen durch Dekantieren und zuletzt auf dem Filter einigermassen oder trennt ihn von der Flüssigkeit durch Zentrifugieren. Der Niederschlag wird darauf in warmem Wasser mit einer Lösung von farblosem Schwefelnatrium zerlegt und das Filtrat mit Salzsäure schwach übersättigt, wobei die Harnsäure, gewöhnlich mit etwas Schwefel, ausfällt. Man reinigt sie nach dem Verfahren von Bensch (1).

Mit der Harnsäure fallen ausser den Xanthinbasen auch der Rhodanwasserstoff und das Eiweiss quantitativ (Huppert[3])), diese bleiben aber in der angesäuerten Flüssigkeit gelöst. Schwefelammon ist zum Zerlegen des Kupferoxydulniederschlags nicht geeignet, weil sich das unlösliche Ammonurat bilden würde. Das Schwefelalkali muss aus Natrium- und Kaliumhydrat dargestellt werden, welches keine Sauerstoffverbindungen des Stickstoffs enthält; es würden sonst bei Zusatz von Salzsäure zur alkalischen Lösung salpetrige Säure oder Salpetersäure und Chlor auftreten und Harnsäure oxydiert werden; man bereitet das Reagens daher aus Natriumhydrat e natrio. Gelbes Schwefelalkali gibt mit Säuren einen starken Niederschlag von Schwefel, der sich der Harnsäure beimengen würde. Farbloses Schwefelalkali erhält man, indem man die eine Hälfte der Lauge mit Schwefelwasserstoff sättigt und die andere Hälfte dazu giesst. Zur Zerlegung des Kupferoxydulniederschlags verwendet man wenig mehr Sulfid, als gerade nötig; man setzt so lang von dem Reagens zu, bis der Niederschlag schwarz geworden ist und prüft dann eine abfiltrierte Probe mit Kupfersulfat oder Bleiacetat auf Sulfid; vom Kupfersalz darf nur wenig zugesetzt werden, weil sonst der Niederschlag auch bei Gegenwart von Sulfid nicht schwarz erscheint, sondern von einer unlöslichen Verbindung von Harnsäure und Xanthinbasen mit Kupferoxyd grün. Eine kleine Menge der Harnsäure beigemengten Schwefels braucht nicht besonders entfernt zu werden; er verschwindet bei der Reinigung der Harnsäure nach Bensch. Vgl. auch S. 1059.

f) Zur Darstellung kann man auch das Zinkurat benützen. S. 1064.

Die Isolierung der Harnsäure aus dem Vogelharn bietet insofern Schwierigkeiten, als es nicht leicht ist, die Harnsäure in Lösung zu bringen. Nach dem Vorgang von v. Knieriem extrahiert man den getrockneten Vogelkot erst mit absolutem Alkohol oder Äther-Alkohol in der Wärme und kocht ihn dann mit 1—2 proz. Natronlauge aus, wobei ein Teil der Harnsäure zerstört wird. Die filtrierte Lösung kann dann nach 1. weiter verarbeitet werden. — Bei dem von Meissner angewandten Verfahren wird das Lösen der Harnsäure in Lauge umgangen. Darnach wird der Harn samt dem Kot in einer Reibschale mit Wasser zerrieben, die ganze Masse unter mässigem weiteren Wasserzusatz eine Weile gekocht, siedend heiss durch ein dichtes Tuch koliert und unter etwas Wasser stark ausgeknetet. Die Harnsäure

[1]) A. E. Garrod u. F. G. Hopkins, Journ. of Physiol. **20**. 118. 1896.
[2]) M. Krüger u. C. Wulff, Zeitschr. f. physiol. Ch. **20**. 181 u. 171.
[3]) Huppert, Zeitschr. f. physiol. Ch. **22**. 556. 1897.

Digitized by Google

geht dabei zum Teil in Lösung, zum Teil bleibt sie als milchige Trübung suspendiert. Man versetzt die gesamte Flüssigkeit mit Salzsäure und filtriert nach 24—48 Stunden ab. — Bensch[1]) hat nach dem 1. beschriebenen Verfahren aus Tauben- und Hühnerkot die Harnsäure mit fast demselben günstigen Resultat dargestellt, wie aus Schlangenexkrementen.

Mit weitaus besserem Resultate wird das zur quantitativen Bestimmung der Harnsäure im Vogelkot von Kóssa angegebene Verfahren benützt werden (s. S. 1065).

4. Aus Harnsteinen. Man zieht das feingepulverte Konkrement so oft mit verdünnter warmer Salzsäure aus, bis sich das Volumen des Pulvers nicht mehr merklich vermindert, löst den Rest in warmer verdünnter Natron- oder Kalilauge, übersättigt mit Salzsäure und lässt 24—48 Stunden stehen. War die alkalische Lösung sehr verdünnt, so dampft man nach dem Ansäuern auf ein kleines Volumen ein. Auch hier wird man das Verfahren von Kóssa anwenden können.

5. Trennung der Harnsäure von den Xanthinbasen. Auf welche Weise sich diese Trennung scharf durchführen lässt, ist bei den Xanthinbasen (S. 993 und 995) angegeben.

Zur Prüfung auf Abwesenheit von Purinbasen löst man 0,1 ccm Substanz in 5 ccm heisser verdünnter Lauge und setzt nach dem Erkalten etwas Diazobenzolsulfosäure zu. Tritt keine Rotfärbung ein, so sind keine Purinbasen zugegen (Burian[2])). Die Reaktion ist noch positiv, wenn 0,05 Xanthin in 50 ccm Lauge vorhanden sind oder 0,05 Guanin in 250 ccm.

Nachweis: a) Die mikroskopische Prüfung der erhaltenen Krystalle ist insbesondere bei kleinen Mengen sehr wertvoll. Bei der mikroskopischen Untersuchung können die S. 1010 geschilderten Formen sämtlich vorhanden sein, erweisen sich aber nicht alle als charakteristisch. Für die Gegenwart von Harnsäure sprechen die rhombischen Tafeln und die Wetzsteinformen, namentlich dann, wenn letztere gelb oder braun gefärbt sind. Man kann in Zweifelfällen zu den Krystallen auf dem Objektträger einen Tropfen konzentrierter Natronlauge fliessen lassen: Harnsäure löst sich auf. Auf Zusatz von einem Tropfen konzentrierter Essigsäure zu der erhaltenen Lösung scheidet sich die Harnsäure allmählich wieder aus, namentlich an festen Substanzen (einem Pflanzenfäserchen etc.) und zwar nun häufig in regelmässig ausgebildeten, weniger gefärbten rhombischen Täfelchen. — Harnsaure Salze versetzt man unter dem Mikroskop direkt mit konzentrierter Essigsäure und wartet die Ausscheidung der Harnsäure ab. — Tetraurat zersetzt sich bei anhaltender Behandlung mit Wasser in Harnsäure, welche auskrystallisiert, und saures Urat, welches in Lösung geht.

Wäscht man ein amorphes Uratsediment auf dem Objektträger in der Weise, dass man auf der einen Seite des Deckgläschens Wasser zufliessen lässt und es auf der anderen Seite mit Fliesspapier wieder wegnimmt, so lässt sich diese Zersetzung unter dem Mikroskop wahrnehmen (Roberts).

b) Man stellt die Murexidprobe an (S. 1029).

---

[1]) W. v. Knieriem, Zeitschr. f. Biol. **13.** 41. — G. Meissner, Zeitschr. f. rat. Med. [3] **31.** 198. — Bensch, Ann. d. Ch. u. Pharm. **54.** 190.

[2]) Zeitschr. f. ph. Ch. **43.** 501. 1905.

Bei Verwendung von Salpetersäure geben das Xanthin, das Guanin, das Epiguanin und eine von Krüger im Harn entdeckte später als Hypoxanthin erkannte Base bei Verwendung von Chlor das Xanthin und seine beiden Homologen die Reaktion gleichfalls in ähnlicher Weise. Eine Verwechslung mit diesen Basen ist ausgeschlossen, wenn die zu der Probe verwendete Substanz in einer genügenden Menge Salzsäure unlöslich war.

Am empfindlichsten wird die Probe, wenn man mit stark verdünnter Salpetersäure auf dem Wasserbade zur Trockene verdampft und nach dem Verschwinden der Flüssigkeit noch einige Zeit zur völligen Trocknung erhitzt. Erst in diesem Stadium tritt die Rotfärbung des Rückstands ein.

Nach Meissner und Shepard [1]) wird die Probe durch die Gegenwart von Bernsteinsäure oder eines bernsteinsauren Alkalis sowie von Kynurensäure erheblich beeinträchtigt oder selbst ganz behindert, während andere organischsaure Alkalien nicht so nachteilig wirken wie die genannten Säuren.

Eine Abart der Murexidprobe ist die von Malerba [2]) angegebene Reaktion. Die Harnsäure wird mit Salpetersäure schwach erwärmt und die Probe nach dem Erkalten mit einigen Tropfen einer 1—2 proz. wässerigen Lösung von Dimethylparaphenylendiamin (Paraamidodimethylanilin) versetzt. Es tritt eine purpurrote Färbung ein, die beim Erwärmen und Abdampfen schön violettblau wird. Die Färbung verschwindet beim Erkalten und kehrt in der Wärme wieder. Die alkoholische Lösung der violettblauen Substanz hält sich lange; wenige Tropfen der Lösung hinterlassen beim Eindampfen einen violettblauen Rückstand, der bei weiterem Erhitzen rot wird.

Trocknet man die zu prüfenden Krystalle mit verdünnter Salpetersäure auf dem Wasserbade ein, erwärmt aber nicht so lange, bis die Rotfärbung auftritt, gibt 2—3 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure und einige Tropfen thiophenhaltiges Benzol zu, so erhält man eine blaue Färbung, welche nach dem Verdunsten des Benzols in Braun übergeht und auf neuerlichen Benzolzusatz wieder auftritt (Denigès [3])).

Zur Bestätigung der angeführten Proben, nicht aber zum Nachweis der Harnsäure an sich, lassen sich folgende Reaktionen verwenden.

c) Die Substanz wird in verdünnte Fehlingsche Flüssigkeit eingetragen und anhaltend gekocht; bei Gegenwart von Harnsäure entsteht ein geringer roter Niederschlag von Kupferoxydul oder ein reichlicher weisser von harnsaurem Kupferoxydul (S. 1026).

Der rote Niederschlag von Kupferoxydul lässt sich in der blauen Fehlingschen Flüssigkeit nur schwer sehen. Am sichersten nimmt man ihn wahr, wenn man die Flüssigkeit stark belichtet und gegen einen dunklen Hintergrund hält. Das auf diese Weise erhaltene Oxydul setzt sich, namentlich beim Abkühlen der Flüssigkeit, schnell ab, und man findet es leicht eher am Boden des Reagensglases abgelagert als in der Flüssigkeit suspendiert.

Stadthagen [4]) hat diese Reaktion insofern abgeändert, als er die Probe mit einigen Tropfen einer Lösung von arseniger Säure in Alkali gelinde erwärmt

[1]) G. Meissner und C. U. Shepard, Untersuchungen über die Entstehung der Hippursäure im tierischen Organismus. Hannover 1866. 113 u. 203.

[2]) P. Malerba, Atti della R. Accad. med. e chir. di Napoli 48. Jahresber. f. Tierch. 1894. 76.

[3]) Journ. de Pharm. et de Ch. 18. 161. 1888.

[4]) Stadthagen, Virchows Archiv **109.** 399. 1887.

Digitized by Google

und dann tropfenweise Kupfersulfat hinzufügt. Durch die arsenige Säure wird das Kupferoxyd zu Oxydul reduziert und dieses gibt mit der Harnsäure sofort den Niederschlag von harnsaurem Kupferoxydul. — Kupferoxydul lässt sich noch in verschiedener anderer Weise erzeugen. — Die Probe allein für sich ist trügerisch; auch die Xanthinbasen und der Rhodanwasserstoff werden gefällt.

d) Man löst die Substanz, nötigenfalls unter Zuhilfenahme von wenig Natronlauge und setzt salpetersaures Silber zu; tritt nicht sogleich ein schwarzer Niederschlag auf, so fällt man mit dem Silbernitrat aus, filtriert schnell und setzt dem Filtrat etwas kohlensaures Natron zu; ist Harnsäure vorhanden, so entsteht jetzt ein schwarzer Niederschlag. — Oder man benetzt einen Streifen Papier mit salpetersaurem Silber und spritzt auf die feuchte Stelle verdünnte Sodalösung; betupft man das so gebildete kohlensaure Silber mit einer Lösung von Harnsäure oder harnsaurem Natron, so entsteht ein schwarzer Fleck (H. Schiff[1]).

Gerbsäure und Schwefelwasserstoff geben diese Reaktion auch, sehr verdünnte Ameisensäure nicht oder langsam, dagegen nicht Eiweiss, Gallenbestandteile, Hippursäure, Benzoësäure, Oxalsäure, Leucin, Harnstoff.

Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Ammoniak und viel Ammonsalz entsteht dagegen ein weisser grossflockiger oder gallertiger Niederschlag.

e) Eine Lösung von Wolframsäure (Maschke) oder Phosphormolybdänsäure (Offer) in überschüssiger Natron- oder Kalilauge wird durch Harnsäure infolge der Reduktion der Wolfram- oder der Molybdänsäure blau und kann einen blauen Niederschlag abscheiden (S. 1027). Die Reaktion wird auch erhalten durch Eiweiss, Alkaloide, Gerbsäure (Offer), Lävulose (Maschke), aber nicht durch Harnstoff, Kreatinin (Maschke, Offer), Traubenzucker oder Rohrzucker (Maschke).

Moreigne[2]) verwendet eine folgendermassen dargestellte Lösung von Phosphorwolframsäure: 20 wolframsaures Ammonium, 10 Phosphorsäure 1: 3,100 Wasser. Nach dem Kochen der Mischung wird mit Salzsäure angesäuert.

f) Ganassini[3]) verwendet direkt die Fällung der Harnsäure mit Zinksulfat oder ammoniakalischer Silberlösung und Magnesiamixtur. Behandelt man diese Fällungen mit Alkali und Oxydationsmitteln (Halogen, Persulfat, Ferricyanid), so entsteht eine blaugrüne Färbung. Die Purinbasen geben diese Reaktion nicht. Eiweiss stört sie nicht. Dagegen verschwindet sie nach dem Ansäuern oder durch einen Überschuss an Alkali.

g) Die Glyoxylsäurereaktion mit konzentrierter Schwefelsäure und Pepton oder Tryptophanlösung mit reiner Harnsäure ist negativ, mit teilweise zersetzter positiv (ältere Uratpräparate)[4]).

Bestimmung:

I. Der reinen Harnsäure.

1. Acidimetrisch.

A. Prinzip. Die Harnsäure bildet nach Tunnicliffe[5]) mit Piperidin ein weisses, krystallinisches, einfach saures Salz $C_5H_4N_4O_3$.

[1]) H. Schiff, Ann. d. Ch. u. Pharm. **109**. 67.
[2]) E. Ledurc, Ann. ch. analyt. appl. **12**. 194. 1907.
[3]) Boll. di chim. e. di farm. **47**. 715. 1908.
[4]) W. Wiechowski, Bioch. Zeitschr. **25**. 456; Zeitschr. f. ph. Ch. **77**. 303. 1912.
[5]) F. W. Tunnicliffe, British med. Journ. 27. Februar 1897.

Digitized by Google

$C_5H_{11}N$, welches mit Wasser von 15° eine 5,3%ige Lösung bildet, in heissem Wasser noch leichter löslich ist und gegen Lackmus schwach alkalisch, gegen Phenolphtalein aber neutral reagiert. Diese Eigenschaften des Salzes haben Tunnicliffe und Rosenheim[1]) zur quantitativen Bestimmung der freien Harnsäure benützt.

B. Erfordernis.

Eine $^1/_{20}$ normale Piperidinlösung. Dieselbe soll im Liter 4,25 g Piperidin enthalten. Man löst etwas mehr als die berechnete Menge reines Piperidin in 1 Liter Wasser und stellt die Lösung unter Verwendung von Phenolphthalein als Indikator auf $^1/_{20}$ oder $^1/_{10}$ normal Salzsäure. Der Kubikzentimeter zeigt 8,4 mg Harnsäure an.

C. Ausführung. Man erhitzt die Harnsäure, solche aus Harn, nachdem sie säurefrei gewaschen worden ist, in einem Kölbchen mit Wasser zum Sieden, wobei auf 0,1 g Harnsäure 15—20 ccm Wasser genügen, setzt einige Tropfen Phenolphtalein zu und lässt die Piperidinlösung zufliessen. Das Ende der Reaktion erkennt man daran, dass die Harnsäure in Lösung gegangen ist und die Flüssigkeit eine schwache Rotfärbung angenommen hat. Bei Harnsäure aus Harn ist wegen ihres starken Farbstoffgehaltes der Eintritt der roten Färbung nur unsicher zu erkennen; den Farbstoff kann man aus der Harnsäure zwar teilweise durch Waschen derselben mit Alkohol entfernen, man tut aber gleichwohl gut, darauf zu achten, ob sich die Harnsäure ganz gelöst hat. Eine Verflüchtigung des Piperidins findet dabei nicht statt.

Die Bestimmung fällt sehr genau aus; bei reiner Harnsäure wurde im Mittel von 10 Bestimmungen 0,17% zu wenig gefunden; bei der aus Harn gefällten Harnsäure war die Abweichung von der Bestimmung durch Wägen etwas grösser.

Man kann die Harnsäure auch mit Lauge eventuell nach vorherigem Versetzen mit neutralisiertem Formaldehyd (Sörensen) unter Verwendung von Methylorange[2]) als Indikator titrieren. Hierbei reagiert die Harnsäure als einbasische Säure d. h. 1 ccm n/10 Lauge entspricht 16,8 mg Harnsäure. Poulein verwendet zum Titrieren Barytlauge und Phenolphthalein als Indikator[3]).

2. Mit Permanganat.

A. Prinzip. Versetzt man eine Lösung von Harnsäure in warmer verdünnter Schwefelsäure mit Permanganatlösung, so verschwindet die Farbe des Permanganats anfangs sofort, zuletzt wird aber die Flüssigkeit auf Zusatz von Permanganat zwar nicht dauernd, aber doch einen Augenblick rot. Die Menge des Permanganats, welche bis zu diesem Endpunkt verbraucht wird, ist nach Blarez und Denigès[4]), aber nur in engen Grenzen, abhängig von dem Gehalt der Flüssigkeit an

[1]) Tunnicliffe u. O. Rosenheim, Zentralblatt f. Phys. **11**. 434. 1897.
[2]) R. Hermann, Diss. Berlin 1898.
[3]) Thèse de Lille 1900. J. T. 31.
[4]) Ch. Blarez und G. Deningès, Comptes rendus **104**. 789. 1887.

Digitized by Google

Schwefelsäure und der Verdünnung, bei einer Konzentration der Harnsäurelösung von 1 : 8000 aber unabhängig vom Gehalt der Flüssigkeit an Schwefelsäure; dann zeigt 1 ccm $^1/_{10}$ normal Permanganat nach Blarez und Denigès 7,4 mg Harnsäure an, und 1 Mol. Harnsäure verbraucht 1,135 At. Sauerstoff, ein Verhältnis, welches sich nicht durch eine einfache Zersetzungsgleichung ausdrücken lässt.

Auf 1 Mol. Harnsäure wird genau 1 At. Sauerstoff verbraucht, wenn in Wasser suspendierte Harnsäure durch Permanganat zu Allantoin (Claus) oder in kalter, alkalischer Lösung zu Uroxansäure (Sundwik[1]) oxydiert wird.

Unter den Bedingungen, unter welchen Hopkins die Titrierung der Harnsäure vornimmt, zeigt der ccm $^1/_{20}$ n-Permanganat nach Hopkins 3,75, nach v. Ritter 3,61 mg Harnsäure an. Die Verschiedenheit des Titers dürfte darin begründet sein, dass Hopkins die Permanganatlösung durch Wägen bereitete, v. Ritter[2]) auf Eisen oder Tetraoxalat stellt.

B. Erfordernis.

Eine $^1/_{20}$ normale Permanganatlösung mit 1,581 Permanganat im Liter; sie wird auf eine $^1/_{20}$ normale Oxalsäure oder Tetraoxalatlösung gestellt, wie bei der Herstellung der Lösung zur titrimetrischen Bestimmung des Eisens (S. 177); die verwendete Oxalsäure muss aschefrei sein. Der Titer der Lösung ändert sich leicht beim Aufbewahren und ist daher öfters aufs neue zu ermitteln.

C. Ausführung. Die Harnsäure wird heiss in möglichst wenig chloridfreiem Natriumcarbonat gelöst, die Lösung nach dem Erkalten mit Wasser auf 100 ccm aufgefüllt, darauf mit 20 ccm konzentrierter Schwefelsäure versetzt und sogleich mit der Permanganatlösung titriert. Bei Verwendung reiner Harnsäure in Mengen, wie sie in 100 ccm normalem Harn vorkommen (ungefähr 50 mg) fällt die Titrierung auf 0,5 mg genau aus. Auch in Ammonurat lässt sich auf diese Weise die Harnsäure titrieren.

Um sich eine richtige Vorstellung von der Endreaktion zu verschaffen, tut man gut, abgewogene Mengen reiner Harnsäure nach diesem Verfahren zu titrieren; man weiss dann im voraus, bei welchem Verbrauch an Permanganat sie eintritt. Die nach Bensch (S. 1037) gereinigte, salzfrei gewaschene Harnsäure ist dazu vollkommen geeignet.

M. Fontana versetzt die schwefelsaure Lösung der Harnsäure mit einem Überschuss einer $1^0/_{00}$igen auf Harnsäure gestellten Permanganatlösung und titriert den Permanganatüberschuss mit Oxalsäure zurück [3]).

---

[1]) Claus, Berichte d. chem. Gesellsch. 7. 227. 1874. — E. E. Sundwik, Zeitschr. f. physiol. Ch. 20. 335. 1894.

[2]) F. Gowland Hopkins, Guys Hospital Reports 48. 299. 1891; Journ. of Pathol. and Bacteriology 1. 455. 1892; Proc. of the London roy. Soc. 52. 96. 1892. — G. v. Ritter, Zeitschr. f. physiol. Ch. 21. 290. 1895.

[3]) Riv. veneta sc. med. 20. fasc. 6. 1903; Arch. f. Verd.-Krankheiten. 9. 600. 1903.

Digitized by Google

3. Als Silber-Magnesiumsalz.

Versetzt man eine alkalische Harnsäurelösung zugleich mit ammoniakalischer Silberlösung und Magnesiamischung, so fällt ein Urat aus, welches auf 1 Mol. Harnsäure 1 At. Silber enthält. Die in dem Niederschlag enthaltene Menge Harnsäure lässt sich in verschiedener Weise direkt und indirekt ermitteln.

1. Man zerlegt das Urat durch Digestion mit Natrium- oder Kaliumsulfhydrat in der Wärme, säuert das Filtrat, welches die Harnsäure als Alkalisalz enthält, mit Salzsäure an und dampft zur Krystallisation ein. Die ausgeschiedene Harnsäure kann gewogen oder ihre Menge durch Titrieren nach I. 1. oder 2. bestimmt werden. Dieses Verfahren ist die Grundlage der Bestimmung der Harnsäure im Harn nach Ludwig und ist unter II. 1. ausführlich beschrieben.

2. Durch Bestimmung des im Niederschlag enthaltenen Stickstoffs (a).

3. Durch Ermittelung seines Gehaltes an Silber (b).

4. Durch Zurücktitrieren des in Lösung gebliebenen Überschusses an Silber (c).

a) Durch Bestimmung des Stickstoffgehalts.

Der gelatinöse Niederschlag wird auf einem kleinen Filter gesammelt und, wie S. 1039 u. 1053 angegeben ist, ammoniakfrei gewaschen. Dieser Niederschlag lässt sich aber nicht ohne weiteres für die Stickstoffbestimmung verwenden, denn er enthält, wie Salkowski gezeigt hat, noch Ammoniak in nicht zu vernachlässigenden Mengen. Von diesem Ammoniak lässt sich der Niederschlag aber nach Arnstein[1]) mit Leichtigkeit vollständig befreien, wenn man ihn (samt Filter) mit Wasser und etwas Magnesia kocht. Die Stickstoffbestimmung wird nach Kjeldahl vorgenommen. Durch Multiplikation der gefundenen Stickstoffmenge mit 3 erfährt man die Menge der Harnsäure. Man findet nach Arnstein einige (ungefähr 3) Prozent zu wenig Harnsäure, offenbar weil das Urat nicht ganz unlöslich ist. Die Bestimmungen ergeben aber dieselben Werte wie die nach b.

Das Verjagen des Ammoniaks durch die Magnesia nimmt man im Kjeldahlkolben vor; erst nachdem das Wasser bis auf einen kleinen Rest weggekocht ist, setzt man die oxydierenden Reagentien zu (10 ccm Schwefelsäure, 5 g Kaliumsulfat und 0,5—1 g Kupfersulfat).

b) Durch Bestimmung des Silbergehalts.

Das Verfahren, welches Salkowski[2]) zur Bestimmung des Silbergehalts in den Silberverbindungen der Xanthinbasen angegeben hat, lässt sich nach Arnstein auch auf den Silberniederschlag der Harnsäure anwenden. Der Niederschlag wird silber- und chlorfrei

[1]) E. Salkowski, Pflügers Archiv **69**. 273. 1898. — Arnstein, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 15. 1898. 257.

[2]) Salkowski, a. a. O. 282. — Arnstein, a. a. O.

Digitized by Google

gewaschen, das Filter getrocknet und in einem Porzellantiegel verascht. Dann wird das gebildete metallische Silber mit Wasser und chlorfreier Salpetersäure übergossen und das Silber durch Erwärmen im Wasserbad zur Lösung gebracht. Den Tiegel hält man dabei mit einem Uhrglas bedeckt. Das Silber löst sich bis auf einen unbedeutenden Rest (nach Salkowski Chlorsilber, wohl auch Cyansilber). Man spritzt das Uhrglas ab, überträgt die Lösung in ein Kölbchen und titriert das Silber nach Volhard mit Rhodanammon zurück. Man richtet die Konzentration der Rhodanlösung nach der Menge des zu erwartenden Silbers (der Harnsäure) ein; 1 ccm $^1/_{20}$ n Rhodanlösung zeigt 8,4 mg Harnsäure an. Das Silber zu wägen statt zu titrieren, empfiehlt sich nicht, weil man zu grosse Werte findet. Das Verfahren gibt mit dem nach a) so gut wie identische Werte.

Gute Werte erhält man auch, wenn man den chlor- und silberfreigewaschenen Niederschlag der Silbermagnesia-Verbindung der Harnsäure in Salpetersäure löst und mit einer gestellten Rhodanlösung titriert.

c) Durch Zurücktitrieren des Silberüberschusses.

A. Prinzip. Bei diesem Verfahren wird die Fällung der Harnsäure durch Zusatz einer bekannten Menge Silbernitrat ausgeführt. Das in Lösung gebliebene Silber bestimmt man nach einem von Denigès[1]) angegebenen Verfahren, welches die Titrierung von Silber in ammoniakalischer Lösung gestattet. Dasselbe ist der Titration des Cyankaliums durch Silberlösung nachgebildet. Versetzt man bei dieser eine chloridhaltige Cyankaliumlösung mit Silbersalz, so bildet sich bekanntlich zunächst das lösliche Salz AgCN, KCN, und erst wenn alles Cyankalium in diese Verbindung übergeführt ist, entsteht auf weiteren Zusatz von Silberlösung eine Trübung von Chlorsilber. Denigès ververfährt nun so, dass er die ammoniakalische Silberlösung mit einem Überschuss von Cyankalium versetzt und den Überschuss mit Silberlösung unter Zuhilfenahme von Jodkalium als Indikator zurücktitriert. Wenn von dem Silbersalz mehr zugesetzt wird, als für das Doppelsalz erforderlich ist, so bildet sich das in Ammoniak unlösliche Jodsilber, wodurch das Ende der Reaktion angezeigt wird. Sind die Lösungen aufeinander gestellt, so gibt diejenige Menge Silberlösung, welche zum Zurücktitrieren der Cyankaliumlösung verbraucht wird, auch die Menge der zur Bindung der Harnsäure verbrauchten Silberlösung an. Wegen der wenn auch geringen Löslichkeit des Jodsilbers in Ammoniak hat man nur darauf zu achten, dass bei der Titrierung der Harnsäure die Lösung nahezu so viel Ammoniak und Jodkalium enthält, als bei der Titerstellung der Lösungen, wobei es mehr auf den absoluten Gehalt der Lösung an Ammoniak ankommt als auf den relativen. Dieser Bedingung wird in der folgenden, nach Versuchen von Arnstein abgeänderten Vorschrift entsprochen.

[1]) G. Denigès, Comptes rendus **117**. 1078. 1893; Bulletin de la Soc. chim. [3] **11**. 226. 1894.

Digitized by Google

B. Erfordernisse.

1. $^1/_{50}$ n-Silberlösung (mit 3,4 g Silbernitrat im Liter), der ccm zeigt 3,36 mg Harnsäure an.

Die von Denigès vorgeschriebene $^1/_{10}$ n-Silberlösung erscheint zu konzentriert; 1 ccm derselben zeigt 16,8 mg Harnsäure an, und ein Tropfen, 20 zu 1 ccm gerechnet, 0,84 mg; der Titrierungsfehler könnte zu gross ausfallen und wir haben an Stelle der $^1/_{10}$ n-Silberlösung eine $^1/_{50}$ normale gesetzt. Eine andere Silberlösung zum Fällen des Harns zu verwenden wie zum Titrieren, kann zu einer Fehlerquelle werden.

2. Magnesiamischung. Nach Denigès soll man 150 g Salmiak und 100 g Chlormagnesium zunächst in ungefähr 750 ccm (20proz.) Ammoniak lösen, darnach mit Ammoniak (von derselben Stärke) auf 1 Liter auffüllen und filtrieren. Mit der Magnesiamischung werden 750 ccm der $^1/_{50}$ n-Silberlösung auf 900 ccm aufgefüllt; 75 ccm der silberhaltigen Mischung enthalten 62,5 ccm der Silberlösung. — Denigès gibt nichts über die Konzentration des Ammoniaks an; aber bei dem Vermischen der Magnesialösung mit der Silberlösung darf kein Chlorsilber ausfallen, was bei Verwendung von 10proz. Ammoniak nicht der Fall ist.

3. Eine 20proz. Jodkaliumlösung, welche, um sie farblos zu erhalten, mit 2 % Ammoniak versetzt wird.

4. Eine Cyankaliumlösung, von welcher 10 ccm 25 ccm der Silberlösung entsprechen, von Denigès als $^1/_{20}$ normal bezeichnet. Es werden 10 g reines Cyankalium in ungefähr 1 Liter Wasser gelöst, die Lösung mit 10 ccm (20proz.) Ammoniak versetzt und filtriert. Der Ammoniakzusatz macht die Lösung haltbarer. Zur Titerstellung misst man 20 ccm der Lösung mit einer Bürette ab, verdünnt mit 100 ccm Wasser, fügt 10 ccm 20proz. Ammoniak und einige (10) Tropfen der Jodkaliumlösung hinzu, und lässt Silberlösung bis zur bleibenden schwachen Trübung zufliessen. Darnach wird die Lösung auf die angegebene Verdünnung gebracht; das Volumen beträgt dann gegen 1,5 Liter. Der Titer der Lösung ist öfter zu prüfen.

C. Ausführung. Man löst die Harnsäure (oder das harnsaure Ammon, wenn die Harnsäure als dieses Salz gewonnen wurde) unter Erwärmen in kohlensaurem Natron, giesst die Lösung in einen Masszylinder und spült das Kölbchen gut nach. Dann lässt man aus einer Bürette 75 ccm der Silber-Magnesiamischung zufliessen, füllt mit Wasser auf 175 ccm auf, schüttelt um und filtriert. Vom Filtrat versetzt man 140 ccm ($^4/_5$ des ursprünglichen Volumens), wie bei der Titerstellung mit 20 ccm der Cyankaliumlösung, 10 Tropfen der Jodkaliumlösung und titriert mit der $^1/_{50}$ n-Silberlösung bis zur bleibenden Trübung. Rechnet man für jeden bis zu diesem Punkte verbrauchten Kubikzentimeter der Silberlösung 4,2 mg Harnsäure, so erhält man die Menge der im ursprünglichen Volumen enthaltenen Harnsäure.

Der Kubikzentimeter der $^1/_{50}$ n-Silberlösung zeigt 3.36 mg Harnsäure an; da man nur $^4/_5$ der ursprünglichen Lösung titriert hat, so hat man diesen Wert mit $^5/_4$ zu multiplizieren. Die verwendeten 50 ccm Silberlösung reichen aus zum Fällen von 168 mg Harnsäure.

4. Andere Bestimmungsweisen.

a) Nach Kreidl[1]). Löst man Harnsäure in einem mässigen Überschuss von Normalalkali, setzt soviel $^1/_{30}$ n-Jodlösung zu, dass die Flüssigkeit schwach gelb gefärbt ist, und übersäuert nach dreiviertel Stunden schwach mit Salzsäure, so ergibt die Titration des überschüssigen Jods mit Thiosulfat, dass auf 1 Mol. Harnsäure 2,3 At. Jod verbraucht worden sind. Titriert man das Jod sogleich zurück, so wird auf das Mol. Harnsäure auffälligerweise mehr Jod, nämlich 3,5 At. verbraucht.

[1]) J. Kreidl, Monatshefte f. Chemie 14. 109. 1893.

Digitized by Google

b) Nach Riegler. Oxydiert man Harnsäure mit Fehlingscher Lösung, so werden nach Rieglers direkter Bestimmung auf 1 g Harnsäure statt der erwarteten 0,7536 g im Mittel 0,8 g (0,7812—0,8333) Kupfer als Kupferoxydul abgeschieden. Zur schnellen Bestimmung des abgeschiedenen Kupferoxyduls empfiehlt Riegler, den Niederschlag mit Salpetersäure zu oxydieren, die Lösung zu neutralisieren und das Kupfer nach de Haen [1]) zu titrieren. Der Lösung wird viel Jodkalium hinzugefügt, wobei folgende Umsetzung stattfindet

$$2Cu(NO_3)_2 + 4KJ = Cu_2J_2 + 4KNO_3 + J_2,$$

und das freigewordene Jod mit Thiosulfat titriert.

c) Nach Mizerski. Bei der Oxydation von Harnsäure mit ammoniakalischer Silberlösung in der Wärme wird auf 0,380 g Harnsäure 1 g metallisches Silber abgeschieden (wonach auf 1 Mol. Harnsäure 4,09 At. Silber oder 2,045 At. Sauerstoff kommen). Dann soll das abgeschiedene Silber gewaschen, in Salpetersäure gelöst und nach Volhard titriert werden. Nencki [2]) bemerkt dazu, dass das Verfahren keine genauen Resultate liefert, hauptsächlich wegen der Schwierigkeit, das metallische Silber vollständig zu sammeln. Nach B. Zebrowski ist die Bestimmung der Harnsäure nach Mizerski unbrauchbar [3]).

d) Nach Geelmuyden [4]). Der Niederschlag, welcher in einer neutralen Harnsäurelösung durch Chlorbaryum entsteht, enthält fast genau so viel Stickstoff wie die zu dem Versuch verwendete Menge Harnsäure. Gegenwart von Salmiak oder einfach saurem Natriumphosphat beeinträchtigt die Fällung der Harnsäure nicht oder nur wenig, geringe Mengen Säure oder Alkalihydrat (auch Ammoniak) üben dagegen einen sehr störenden Einfluss aus. Die zur Bestimmung verwendete Harnsäure ist in der Kälte in sehr verdünnter Natronlauge zu lösen, die Lösung so zu verdünnen, dass sie nicht mehr als 1 g Säure im Liter enthält und genau zu neutralisieren. Konzentriertere Lösungen trüben sich beim Neutralisieren.

Über das Verhalten der Harnsäure im Harn gegen Bariumchlorid vgl. S. 1037.

e) Nach A. Ronchese. In schwach alkalischen Medien (Borax, Kalium oder Ammoniumbicarbonat) lässt sich die Harnsäure bei gewöhnlicher Temperatur mit Jod gut titrieren. 1 Mol Harnsäure = 2 Atome Jod. (1 ccm n/10 Jodlösung = 8,4 mg Harnsäure). Die zu messende Harnsäure wird in Lauge gelöst mit Essigsäure die Lösung sauer und dann wieder mit Borax- oder Kaliumbicarbonatlösung schwach alkalisch gemacht, Stärke zugesetzt und mit Jodlösung bis zur Blaufärbung titriert [5]).

f) Nach Jolles. Die Harnsäure lässt sich durch Kochen mit Permanganat in saurer Lösung vollständig in Harnstoff überführen, welcher dann nach dem Hypobromitverfahren azotometrisch gemessen wird [6]). Die Harnsäure wird mit 140 ccm einer Schwefelsäure vom spezifischen Gewicht 1,4 zum Sieden erhitzt (wenn die Harnsäure als Ammonurat vorliegt, so soll das Ammoniak durch einstündiges Kochen mit Magnesiumoxyd zuerst entfernt werden). In die siedende Flüssigkeit wird 0,8% Kaliumpermanganat kubikzentimeterweise eingetragen. Sobald die Entfärbung nicht mehr schnell erfolgt, setzt man nur mehr Portionen von 5—6 Tropfen zu. Wenn sich die nach der Entfärbung des Permanganats zurückbleibende gelbbraune Farbe mehr als 5 Minuten hält, verdünnt man ad 500 Wasser und trägt unter beständigem Sieden innerhalb einer Stunde noch 2 ccm Permanganatlösung ein. Dann wird auf 30 ccm eingedampft. Löst sich hierbei noch das Mangansuperoxyd, so muss man weitere Permanganatmengen zusetzen. Nach dem Einengen wird der ausgeschiedene Braunstein durch eine

---

[1]) E. Riegler, Zeitschr. f. anal. Ch. **35**. 31 u. 92. 1896. — F. de Haen, Ann. d. Chem. u. Pharm. **93**. 237. 1854; Fresenius, quantit. Anal. 6. Aufl. **1**. 335.

[2]) A. Mizerski, Nowiny lekarskie 1893. 121; Jahresb. f. Tierch. 1893. 251. — Nencki, Jahresber. a. a. O.

[3]) Gazetta lekarska **22**. 662. 1902. J. T. 32.

[4]) H. Chr. Geelmuyden, Zeitschr. f. analyt. Ch. **31**. 166. 1892.

[5]) C. r. soc. biol. 1906. 504, 524.

[6]) J. T. **30**. 354. — Richter, Zeitschr. f. anal. Ch. **41**. 350; Journ. f. prakt. Ch. **67**. 374. 1903.

Digitized by Google

Spur Oxalsäure zerlegt, unter Kühlung die Flüssigkeit mit Natronlauge von 32° B. alkalisch gemacht und in das Azotometer gebracht. Wenn man bei der Oxydation so viel Permanganat zusetzt, daß der Braunstein nicht verschwindet, so ist alle Harnsäure in Harnstoff übergeführt (Richter, l. c.). Nach Falta [1]) und nach Matrai ist das Verfahren unbrauchbar [2]).

g) A. F. Dimmrock u. F. W. Brauson zerlegen die Harnsäure mit Hypobromit und messen den gebildeten Stickstoff in einem empirisch geeichten Azotometer [3]).

h) Eine colorimetrische Bestimmung wurde auf das S. 1027 erwähnte Verhalten der Harnsäure zu alkalischen Phosetonwolframsäurelösungen von Obermeyer, Pollak und Zak (Wiener kl. Wochenschr. 1912, Nr. 49) und von Folin und Denis (Journ. of bilol. Chem. XIII. Nr. 3 u. 4. 1912/13) begründet.

II. Bestimmung der im Harn enthaltenen Harnsäure.

Die unter I angeführten Methoden zur Bestimmung der reinen Harnsäure lassen sich nicht unmittelbar auf den Harn anwenden, weil andere Harnbestandteile die Bestimmung in hohem Grade störend beeinflussen. Für die quantitative Bestimmung ist die Harnsäure aus dem Harn darzustellen.

Zur Darstellung der Harnsäure aus Harn ist der nächstliegende Weg, den nach Ansäuern des Harns ausfallenden Niederschlag zu sammeln, nicht gangbar, weil hierbei, wie bereits erwähnt, nicht alle Harnsäure des Harns gefällt wird. Die Bestimmung der Harnsäure in reinen Uratlösungen durch Abscheidung mit überschüssiger Salz- besser Schwefelsäure, führt zu genauen Resultaten, wenn man Übersättigungserscheinungen durch anhaltendes Schütteln vermeidet und für den in Lösung verbleibenden Anteil der Harnsäure eine Korrektur (2 mg Harnsäure für 100 ccm Flüssigkeit bei 18°) anbringt (His und Paul [4])). Im Harn ist jedoch diese Methode unbrauchbar, weil einerseits nicht alle Harnsäure entsprechend ihrer Löslichkeit in verdünnter Mineralsäure gefällt wird und andererseits die Säurefällung fremde Substanzen beigemischt enthält [5]). Auch wenn man ausser Mineralsäure noch gewogene Mengen Harnsäure dem Harn zusetzt und nun längere Zeit rotiert, erhält man nicht immer alle Harnsäure des Harns. Nach Meisenburg [6]) soll dadurch alle „freie" Harnsäure abgeschieden werden und nur die in „komplexer" Bindung vorhandene nicht gefällt werden. Er erhielt mit diesem Verfahren im Harn nach Thymusgenuss alle Harnsäure (zur Kontrolle wurde derselbe Harn dem Verfahren von Ludwig-Salkowski unterworfen), im Harn, der nach Koffeindarreichung entleert wurde, entging aber ein grosser Teil der vorhandenen Harnsäure der Fällung durch dieses Verfahren.

Dementsprechend wird auch das Vorgehen von N. J. Surveyor [7]), welcher den Harn nach dem Ansäuern zu Eis gefriert, dann wieder auftauen lässt und die Menge des Niederschlages in einer graduierten Röhre misst, keinen Anspruch auf Genauigkeit erheben können.

Einen Anhaltspunkt über die Menge der vorhandenen Harnsäure im Harn soll man nach W. Mayzel dadurch gewinnen, dass man den Harn nach dem Ansäuern mit rauchender Salzsäure in einem Spitzglase mit einem Holzstabe schlägt. Fällt bei dieser Prozedur nichts aus, so soll die Harnsäure im Menschenharn sicher nicht abnorm vermehrt sein [8]).

[1]) J. T. **31**. 5. 32. 117.
[2]) Zeitschr. f. ph. Ch. **35**. 205. 1902.
[3]) Pharm. Journ. **17**. 152; Ch. Zeitschr. 1903. II. 774.
[4]) Zeitschr. f. ph. Ch. **31**. 64. 1900.
[5]) Nikolaier u. Dohrn, Deutsches Arch. f. klin. Med. **91**. 151. 1907.
[6]) Ebenda **87**. 425. 1906.
[7]) Brit. med. Journ. 1905. II. 69.
[8]) Gaz. lekarska **27**. 683. 1907; J. T. **37**. 322.

Digitized by Google

Bei den im folgenden beschriebenen Methoden wird die Harnsäure entweder als solche oder als Ammonurat abgeschieden und zur Messung gebracht. In den Mutterlaugen von der Harnsäure wie vom Ammonurat bleiben nicht zu vernachlässigende Mengen von Harnsäure gelöst, und weitere Mengen von Harnsäure gehen bei dem unumgänglichen Waschen der abgeschiedenen Produkte in Lösung. Die dadurch der Messung entzogenen Harnsäuremengen scheinen grösser zu sein, als nach der Löslichkeit der Harnsäure in Wasser oder verdünnter Säure und nach der Löslichkeit des Ammonurats in Ammonsalzlösungen zu erwarten wäre. Die aus Harn abgeschiedene unreine, gefärbte Harnsäure und das ebenso beschaffene Ammonurat haben offenbar eine grössere Löslichkeit als die reinen Substanzen.

Man kann also die abgeschiedene Harnsäure nicht, wie es sonst bei quantitativ-analytischen Arbeiten üblich ist, bis zur Gewichtskonstanz waschen, weil niemals Konstanz erreicht wird. Unter diesen Umständen bleibt nichts anderes übrig, als bis zum Verschwinden einer Reaktion im Filtrat mit einer Flüssigkeit zu waschen, die wenig von der abgeschiedenen Substanz löst (Harnsäure aus salzsaurer Mutterlauge mit verdünnter Schwefelsäure bis zur Chloridfreiheit des Filtrats, Ammonurat mit der Lösung eines entsprechenden Ammonsalzes) und für die in Lösung gebliebenen und gegangenen Anteile eine Korrektur anzubringen. Ein solches Verfahren hat aber, abgesehen davon, dass eine exakte Ermittelung der notwendigen Korrekturen noch aussteht, den Nachteil, dass es bei sehr kleinen Harnsäuremengen offenbar zu sehr erheblichen Fehlern führen muss. Es wäre daher zu versuchen, ob sich das Verfahren, welches Kóssa zur Bestimmung der Harnsäure im Vogelkot angegeben hat, nicht auf die Behandlung isolierter Harnsäure überhaupt anwenden liesse. Nach diesem Verfahren wird die gesammte die Harnsäure enthaltende Fraktion in warmer konzentrierter Schwefelsäure gelöst, die Lösung mit Alkohol gefällt und die Fällung mit Alkohol gewaschen. Da die Harnsäure in Alkohol ganz unlöslich ist, so könnte man bei Einhaltung dieses Vorganges bis zur Gewichtskonstanz mit Alkohol waschen.

Abgesehen von diesen die Genauigkeit der Resultate beeinträchtigenden Momenten ist stets zu bedenken, dass die Abscheidung der Harnsäure aus Harn durch die zu beschreibenden Methoden nicht absolut quantitativ ist und dass der der Abscheidungsmethode als solcher zukommende Fehler unter Umständen nicht konstant sein muss.

1. Nach Ludwig.

A. Prinzip. Aus einer verdünnten Uratlösung wird die Harnsäure bei Gegenwart von Neutralsalz oder einer ammoniakalischen Magnesialösung durch eine ammoniakalische Silberlösung als Verbindung mit Silber und einem zweiten Metall bis auf Spuren gefällt (S. 1021). Beim Behandeln des Niederschlags mit Alkali-

Digitized by Google

Sulfhydratlösung geht die Harnsäure als Alkalisalz wieder in Lösung, und nach dem Eindampfen der angesäuerten Lösung krystallisiert die Harnsäure aus. Sie wird auf einem Filter gesammelt und gewogen. Weil sich der gelatinöse Harnsäureniederschlag nur schwer auswaschen lässt, wird im Harn durch Zusatz von ammoniakalischer Magnesialösung ein Niederschlag von Tripelphosphat erzeugt, der sich dem Harnsäureniederschlag beimengt und ihn so lockrer macht.

Die Grundlage des Verfahrens bildet die Beobachtung von Salkowski, dass aus Harn, aus welchem die Harnsäure durch Salzsäure, soweit es eben auf diese Weise geht, ausgefällt war, ammoniakalische Silberlösung den in Lösung gebliebenen Rest Harnsäure niederschlägt. Maly hat dann nachgewiesen, dass der durch das Reagens aus Harn direkt erhaltene Niederschlag neben Silber noch Alkali und Erdalkali enthält. Auf Grund seiner Beobachtung empfahl Salkowski die Harnsäure in zwei Teilen zu bestimmen, nämlich durch Fällen nach Heintz mit Salzsäure und den in Lösung gebliebenen Rest für sich durch ammoniakalische Silberlösung. Ludwig vereinfachte das Verfahren dahin, dass die gesamte Harnsäure bloss durch ammoniakalische Silberlösung abgeschieden wurde. Ein ähnliches, aber umständlicheres Verfahren hat Salkowski später selbst mitgeteilt. Die Methode ist nach der späteren ausführlichen Beschreibung von Ludwig mit einigen von Huppert gemachten Zusätzen wiedergegeben.

B. Erfordernisse.

1. Ammoniakalische Silberlösung. Es werden 26 g salpetersaures Silber in Wasser gelöst, die Lösung mit soviel Ammoniak versetzt, dass der anfangs entstehende braune Niederschlag von Silberoxyd wieder in Lösung geht und die Lösung mit Wasser zum Liter aufgefüllt. — Statt Silbernitrat kann man auch die entsprechende Menge Chlorsilber oder Silberoxyd in Ammoniak lösen.

2. Magnesiamischung. Man löst 100 g krystallisiertes Chlormagnesium in der genügenden Menge Wasser, setzt eine kalt gesättigte Chlorammonlösung in reichlicher Menge und darauf so viel starke Ammoniakflüssigkeit zu, dass die Mischung stark darnach riecht. Die Mischung soll klar sein; enthält sie einen flockigen Niederschlag (von Magnesiumhydrat), so wird dieser durch nachträglichen Zusatz von Chlorammonlösung oder durch Lösen von Salmiak in der Mischung auch in Lösung gebracht. Zuletzt wird auf 1 l aufgefüllt.

3. Lösung von Einfach-Schwefelkalium oder Schwefelnatrium. Es werden 15 g Kaliumhydrat oder 10 g Natriumhydrat zum Liter gelöst, die eine Hälfte der Lösung vollständig mit Schwefelwasserstoff gesättigt und mit der anderen Hälfte wieder vermischt. Das Alkalihydrat muss frei von Salpetersäure und salpetriger Säure sein: sie gelangen, an das Alkali gebunden, zuletzt in die Harnsäurelösung, und beim Ansäuern derselben mit Salzsäure werden diese Säuren sowie Chlor frei, und Harnsäure zerstört. Am besten bereitet man das Sulfhydrat daher aus Natrium hydricum e natrio. Die Lösung zersetzt sich in Berührung mit Luft allmählich und enthält zuletzt kein Sulfhydrat mehr.

Die angegebene Konzentration der drei Reagentien ist so gewählt, dass je 10 ccm derselben für 100 ccm Harn vollständig ausreichen, um einerseits alle Phosphorsäure und alle Harnsäure zu fällen und andererseits aus dem Niederschlage alle Harnsäure in Lösung zu bringen, selbst wenn der Harn überaus reich an Harnsäure ist.

Denigès [1]) vereinigt die Silberlösung mit der Magnesiamischung. Es werden 150 g Salmiak und 100 g Chlormagnesium zusammen in 20proz. Ammoniak gelöst, die Lösung mit Ammoniak auf 1 Liter aufgefüllt und filtriert. Ein Volumen dieser mischt man mit dem gleichen Volumen einer $^1/_{10}$ n-Silberlösung (mit 17 g Silbernitrat im Liter). Von dieser Mischung genügen 25 ccm, um die Harnsäure aus 100 ccm Harn abzuscheiden.

[1]) G. Denigès, Bull. de la Soc. chim. [3] 11. 226. 1894.

Digitized by Google

C. Ausführung. Es werden 100 oder 200 ccm Harn in ein Becherglas gemessen. In einem anderen Becherglas werden auf 100 ccm Harn 10 ccm der Silberlösung (1) mit 10 ccm der Magnesiamischung (2) gemischt und der entstandene Niederschlag von Chlorsilber wieder in Ammoniak gelöst; ein sich dabei etwa bildender flockiger Niederschlag von Magnesiumhydrat bleibt unberücksichtigt. Diese Mischung giesst man unter Umrühren in den Harn, lässt den entstandenen Niederschlag sich einigermassen absetzen, filtriert ihn dann auf einem Saugfilter (von 10 cm Durchmesser) ab und wäscht ihn noch 2—3 mal mit Wasser, dem einige Tropfen Ammoniak zugesetzt sind, nach. Die Waschflüssigkeit benutzt man gleichzeitig zur Ausspülung des Becherglases, aus dem man aber nicht jeden Rest des Niederschlags auf das Filter zu bringen nötig hat. Man saugt alle Flüssigkeit vom Filter ab. Sobald der Niederschlag rissig geworden ist, löst man ihn mit einem Glasstab vom Filter ab und bringt ihn in das Becherglas zurück. Das Filter muss dabei ganz bleiben. Das Ablösen des halb trocknen Niederschlags vom Filter gelingt leicht in der Weise, dass man den Glasstab auf dem Filter entlang rollt. Die noch im Filter befindlichen Reste des Niederschlags werden möglichst vollständig gleichfalls in das Becherglas gespritzt.

Es werden dann 10 ccm der Schwefelkalilösung (3) mit ungefähr dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und zum Kochen erhitzt. Mit dieser Flüssigkeit bespült man das Filter und lässt sie in das unter den Trichter gestellte Becherglas mit dem Niederschlag ablaufen. Man zerteilt den Niederschlag mit einem Glasstab möglichst fein, erhitzt über freier Flamme bis gerade zum Sieden oder stellt das Becherglas eine Zeitlang in kochendes Wasser. Ein zu langes Erhitzen bedingt einen Verlust an Harnsäure. Nachdem man sich überzeugt hat, dass der ganze Niederschlag durchaus schwarz geworden ist und keine unveränderten grauen oder gelben Teile mehr enthält, filtriert man durch das bereits benutzte Filter in eine Schale und wäscht den Niederschlag gut (bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion) mit heissem Wasser aus. Das Filtrat wird alsdann mit Salzsäure angesäuert, wozu 5 ccm einer auf das 4 fache verdünnten Säure von 1,12 Dichte genügen und auf 10—15 ccm eingedampft. Nach dem Erkalten krystallisiert die Harnsäure vollends aus. Ludwig hält ein einstündiges Stehen der erkalteten Flüssigkeit dazu für genügend; ein längeres Zuwarten ist auf keinen Fall unvorteilhaft.

Um den Verlust zu vermeiden, welcher bei der Einwirkung der alkalischen Sulfhydratlösung in der Wärme eintreten kann, schüttelt Hopkins [1]) den Niederschlag in der Kälte tüchtig mit dem Sulfhydrat, erhitzt gerade bis zum Sieden und filtriert.

Man darf nicht zur Trockne eindampfen, weil sonst die Harnsäure feinpulverig ausfällt und sich dann schwer abfiltrieren lässt; ausserdem könnte sich wieder harnsaures Salz bilden und dieses der Bestimmung entgehen.

[1]) F. G. Hopkins, Proceed. of the roy. Soc. 52. 97. 1892.

Digitized by Google

Die Menge der ausgeschiedenen Harnsäure lässt sich in verschiedener Weise bestimmen. Um sie zu wägen, bringt man sie nach Ludwig auf ein bei 110° getrocknetes Glaswollfilter, indem man das Filtrat zum Nachspülen der Schale so oft verwendet, bis sich alle Krystalle auf dem Filter befinden, saugt die Mutterlauge unter schwachem Druck ab und wäscht das Filter immer nur mit kleinen Mengen Wasser chlorfrei. Neben der Harnsäure befindet sich auf dem Filter noch Schwefel, welcher sich aus dem Schwefelkali bei Zusatz der Säure abgeschieden hat und der vor dem Wägen entfernt werden muss. Zu diesem Zwecke trocknet man das Filter, spült es nach dem Erkalten (3 mal) mit Schwefelkohlenstoff durch und verdrängt den Schwefelkohlenstoff zuletzt sofort durch Äther. Das Filter wird dann wieder bei 110° getrocknet und nach dem Erkalten im Exsikkator gewogen. In der Regel genügt ein einstündiges Verweilen des Filters im Trockenkasten zur Herstellung der Gewichtskonstanz. Statt der Glaswolle lässt sich zum Füllen des Trichters auch mit Salzsäure ausgekochte und wieder säurefrei gewaschene Asbestwolle verwenden.

Nach diesem Verfahren erhielt Ludwig bei Versuchen mit reiner Harnsäure im Mittel 98% derselben wieder.

Enthält der Harn ein Harnsäuresediment, so löst man dieses vor dem Abmessen des Harns durch Erwärmen im Harn auf. Oder man löst es durch Erwärmen in möglichst wenig Natronlauge und mischt die Lösung mit dem Harne. Ein dabei entstehender Phosphatniederschlag hat nicht viel auf sich; im Notfalle kann man, wenn er so stark ist, dass der Tripelphosphatniederschlag später zu schwach wäre, der Mischung noch Natronphosphat zusetzen. Sehr rätlich ist auch, um die Bildung eines Uratsediments zu verhindern, den Harn in einem etwas kohlensaures Natron enthaltenden Gefäss zu sammeln.

Pepton und Propepton beeinträchtigen nach Stadthagen die Fällung der Harnsäure nicht. Dagegen muss das Eiweiss vorher entfernt werden. Ludwig verfährt dazu nach S. 1023, filtriert durch ein Leinwand- oder Papierfilter und wäscht das Coagulum gut aus. Es wird dabei eine unbedeutende Menge Harnsäure weniger gefunden als in eiweissfreiem Harn.

Ist die Harnsäure stark gefärbt oder scheidet sich neben ihr noch Schwefelsilber ab, wie manchmal geschieht, so löst man sie in der Wärme in reiner (nitrat- und nitritfreier) Natron- oder Kalilauge filtriert, wäscht aus, säuert das Filtrat mit Salzsäure an und verdampft zur Krystallisation. Dabei erleidet man aber nicht unerhebliche Verluste an Harnsäure. Um diese zu vermeiden und das lästige Wegwaschen des Schwefels zu umgehen, zersetzt Groves den Silberniederschlag statt mit Schwefelalkali mit einer äquivalenten Lösung von Jodkalium. Die Harnsäure färbt sich dabei aber leicht gelb und nach Hopkins[1]) wird durch frei werdendes Jod ein Teil der Harnsäure zerstört.

Deroide[2]) will die Harnsäure vom Schwefel in der Weise trennen, dass er sogleich nach Zusatz von Salzsäure zu dem alkalischen Filtrat durch ein kleines glattes Filter filtriert und mit heissem Wasser nachwäscht. Der Schwefel scheidet sich aber erst vollständig beim Erwärmen der angesäuerten Flüssigkeit aus und schon vorher kann auf dem Filter Harnsäure auskrystallisieren.

Das Sammeln der Harnsäure auf Filtern von Glas- oder Asbestwolle hat etwas Missliches, weil sie sich schwer dicht herstellen lassen

[1]) E. W. Groves, Journ. of Physiol. **12**. 484. 1891. — Hopkins, a. a. O.

[2]) E. Deroide, Contribution à l'étude des procédés de dosage de l'acide urique. Lille 1891. 28.

Digitized by Google

oder, wenn sie zu dicht ausgefallen sind, das Filtrieren erschweren. Papierfilter, deren sich Groves sowie Geelmuyden bedienen, behalten bei wiederholtem Trocknen und namentlich nach der Behandlung mit Säure kein konstantes Gewicht. Hopkins hat vorgeschlagen, die Harnsäure auf einem gehärteten Filter auszuwaschen, sie dann vom Filter auf eine gewogene Schale zu spritzen, was bei der Glätte des Filters leicht möglich ist, sie bei 110° zu trocknen und zu wägen.

Einige (Ebstein, Bödtker, Geelmuyden) haben mit der Harnsäure eine Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl ausgeführt. Durch Multiplikation des gefundenen Stickstoffs mit 3 erfährt man die Menge der Harnsäure.

Die Säure wird auf einem kleinen Papierfilter ausgewaschen und dann samt dem Filter oxydiert, wozu man 10 ccm Schwefelsäure, 5 g Kaliumsulfat und 0,5—1 g Kupfersulfat braucht. — Geelmuyden [1]) fand durch die Stickstoffbestimmung im Mittel von 14 Bestimmungen 9,36 % weniger als durch Wägen auf einem Papierfilter, hält aber die nach Kjeldahl erhaltenen Resultate für die richtigeren.

Noch einfacher lässt sich die Harnsäure nach einer der unter I. 1., 2. oder 3. c. ausgeführten Methoden bestimmen. Für das Titrieren mit Piperidin (I. 1.) muss die Harnsäure völlig säurefrei gewaschen werden, bei den beiden anderen Methoden ist dieses nicht unbedingt nötig. Die Harnsäure wird vom Filter abgespritzt und für den Versuch verwendet.

Im Menschenharne liefert diese Methode befriedigende Resultate, wenn es auch mitunter vorkommt, daß Parallelbestimmungen aus unauffindbaren Ursachen mit einem bestimmten Harn immer wieder unbefriedigende Übereinstimmung zeigen. Im Harn von Hunden und Kaninchen, sowie von Katzen, in welchem allermeist sehr wenig Harnsäure vorhanden ist, erhält man nach dieser Methode sehr häufig überhaupt keine Fällung mit ammoniakalischer Silberlösung und Magnesiamixtur, in anderen Fällen tritt sie sehr verspätet ein, die ganze Flüssigkeit schwärzt sich infolge von weitgehender Reduktion des Silbersalzes und aus dem minimalen, nach mühsamer, nicht endenwollender Filtration erhaltenen Niederschlage erhält man nach dem Behandeln mit Sulfhydrat und Ansäuern des Filtrats auch nach langem Stehenlassen der eingeengten Flüssigkeit keine Harnsäurekrystallisation, sondern höchstens eine amorphe, flockige, braune Abscheidung. Nichtsdestoweniger ist in allen diesen Harnen Harnsäure vorhanden und lässt sich auch mittelst einer etwas modifizierten Methodik durch das Silberverfahren gewinnen. Die Ursache für das Misslingen der Bestimmung, wenn man sich an die oben gegebene Originalvorschrift hält, liegt einerseits darin, dass die Zerlegung des Silberniederschlags durch Alkalisulfhydrat mit um so grösseren Verlusten an Harnsäure verbunden zu sein scheint, je weniger Harnsäure zugegen ist, andererseits darin, dass offenbar die quantitative Fällung durch irgendwelche Substanzen gehemmt ist. Schliesslich kommt noch dazu, dass man die die Harnsäure etwa enthaltenden salzsauren Filtrate nicht exzessiv einengen kann, weil schon vorher die anwesenden anorganischen Salze (NaCl) auszukrystallisieren beginnen.

Den letzteren Nachteil habe ich dadurch umgangen, dass ich zunächst nach dem Verfahren von Camerer-Arnstein durch Zugabe von Magnesiamixtur und Ammoniak die Phosphate ausfällte und

[1]) H. Chr. Geelmuyden, Zeitschr. f. analyt. Ch. 31. 160. 1892.

Digitized by Google

in deren Filtrat erst mit ammoniakalischer Silberlösung die Purinstoffe niederschlug. Gibt man einen reichlichen Überschuss von Magnesia zu, so wird man viel seltener durch Reduktion gestört. Nach der Zugabe der Silberlösung muss man meist 24 Stunden warten. Der Niederschlag bildet sich nur langsam. Man stellt daher die Probe am besten in das Dunkelzimmer oder bedeckt sie mit einer schwarzen Glocke. Den auf dem Filter gesammelten und gewaschenen Niederschlag zerlege ich mit dem Filter durch Schwefelwasserstoff, um die Zersetzungsmöglichkeit durch freies Alkali zu vermeiden und um später keine Salze in der Harnsäuremutterlauge zu haben. Dabei scheidet sich das Silbersulfür in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle kolloid ab und lässt sich nicht durch Filtration trennen. Trocknet man jedoch die ganze Flüssigkeit auf dem Wasserbade ein, so flockt das Schwefelsilber aus und man kann dem trockenen Rückstand meist ohne kolloide Lösung des Silbersulfids die nun als Magnesiumsalz vorhandene Harnsäure durch heisses Wasser entziehen. Nur wenn sehr viel Farbstoff mit gefällt war, geht etwas Silbersulfid kolloid in Lösung, es ist dann zweckmässig, die ganze Prozedur (d. h. die Fällung mit Magnesia und Silber) zu wiederholen, wobei dann die Harnsäure mit geringerer Verunreinigung durch Farbstoff abgeschieden wird und die Gewinnung der Lösung von Magnesiumurat in reiner Form möglich ist. Ich habe mich durch öftere Prüfung des zurückbleibenden Silbersulfids überzeugt, dass auch bei Anwesenheit von viel Harnsäure (Menschenharn) keine Harnsäure der Lösung entgeht, wenn man etwa 6 mal den Rückstand mit kochendem Wasser digeriert. Das Filtrat kann man dann beliebig weit einengen. Anorganische Salze sind keine zugegen, die das weitere Vorgehen durch Auskrystallisieren stören könnten. —

Die die Fällung der Purinstoffe hemmenden Substanzen des Hunde- etc. Harns entferne ich vor der Fällung der Phosphate durch verdünnte Phosphorwolframsäurelösung. Das Verfahren gründet sich auf das oben S. 1023 mitgeteilte Verhalten der Harnsäure zu Phosphorwolframsäure in grosser Verdünnung und bei Anwesenheit von durch das Reagens leichter fällbaren Stoffen. Es wird nur so viel einer 1%igen Phosphorwolframsäurelösung zugesetzt, dass im Filtrat keine Phosphorwolframsäure nachweisbar ist. Hierbei fällt, wie Versuche mit Menschenharn ergeben haben, auch bei Anwesenheit von viel Harnsäure nichts von derselben aus, wenn man sogleich filtriert. Durch die vorherige Fällung des Harns mit Phosphorwolframsäure werden alle späteren Filtrationen auch wesentlich erleichtert. Ich beschreibe die Methode im folgenden zum ersten Male auf Grund zahlreicher Analysen im Hunde- und Kaninchenharn. Beweisend für ihre Zuverlässigkeit waren mir besonders jene nicht seltenen Fälle, in denen die originale Ludwigsche Methode überhaupt keinen Purinniederschlag ergab, während derselbe Harn nach der Behandlung mit Phosphorwolframsäure eine deutliche Fällung mit dem Silberreagens aufwies, aus welcher sich auch stets wohlkrystallisierte Harnsäure darstellen liess.

Digitized by Google

Ausführung nach Wiechowski.

Harnsäurereiche Harne werden vor der Inarbeitnahme auf einen Gehalt von annähernd 1 U.: 2000 verdünnt, mit 1% einer Salzsäure von 1,19 sp. G. versetzt und in Proben von je 2 ccm diejenige grösste Menge einer 1%igen Phosphorwolframsäure ausgetastet, bei deren Verwendung im Filtrate von der braunen flockigen Fällung keine Phosphorwolframsäure nachweisbar ist. Als Reagens auf Phosphorwolframsäure kann man entweder den in Arbeit befindlichen Harn selbst oder eine 5%ige Lösung von Chininhydrochlorid (Bass) verwenden. Das Filtrat darf weder durch das eine oder andere Reagens im geringsten getrübt werden. Nach dem Ausfall dieser Vorprüfung berechnet man diejenige Menge der 1%igen Phosphorwolframsäure, welche man dem in Arbeit zu nehmenden Harnvolumen zuzusetzen hat, wobei man eher zu wenig als zu viel zusetzt. Nun wird mit Wasser auf ein rundes Volumen aufgefüllt und sofort durch ein Faltenfilter filtriert. Die Filtration geht sehr flott vonstatten. Das Filtrat wird gemessen, mit Ammoniak alkalisch gemacht und nach der Vorschrift von Camerer (s. S. 941) mit Magnesiamixtur behandelt. Man füllt wieder auf ein rundes Volumen auf und filtriert sofort wieder durch ein Faltenfilter das ausgefällte Tripelphosphat ab. Ein gemessener Teil des Filtrats wird nun mit Silberlösung gefällt. Die Silbermagnesiaverbindung der Harnsäure ist zwar auch in starkem Ammoniak unlöslich, man wird aber — da ja meist auch die Bestimmung der Basen in der Mutterlauge der Harnsäure beabsichtigt ist — zweckmässig von den oben S. 942 erwähnten Beobachtungen von Bass Gebrauch machen und durch Verwendung von gewöhnlicher, nicht ammoniakalischer Silbernitratlösung den Ammoniaküberschuss, der zur völligen und raschen Ausfällung der Phosphate nötig war, abstumpfen. Man soll jedoch nicht so viel Silbernitratlösung zusetzen, dass Chlorsilber ausfällt. Dieses muss auf alle Fälle vermieden werden, wenn man den Niederschlag nach der Behandlung mit Schwefelwasserstoff zur Trockne bringen will. Hat man aus irgend einem Grunde vorgezogen, soviel Silbernitratlösung zuzusetzen, dass dem Purinniederschlag Chlorsilber beigemengt ist, oder ist man im Zweifel, ob solches der Fall ist, so verfährt man weiter nach b. Man kann aber auf alle Fälle bei der Fällung mit ammoniakalischer Silberlösung bleiben, weil der durch einen Ammoniaküberschuss etwa bedingte Fehler bei der etwa nachträglich geplanten Bestimmung der Basen im Harn wenigstens ganz unbedeutend ist. Jedenfalls soll aber die Silberlösung genau nach den Vorschriften von Ludwig hergestellt sein, d. h. nicht mehr Ammoniak enthalten, als zur Lösung des zuerst ausfallenden Silberoxyds nötig ist.

a) Der Purinniederschlag enthält kein Silberchlorid, er ist durch ammoniakalische Silberlösung gewonnen. Man bringt ihn auf ein Faltenfilter und wäscht ihn zunächst mit Ammoniakwasser (1% der käuflichen konzentrierten Lösung) silberfrei. Hierauf bringt man das Filter

Digitized by Google

samt dem Niederschlag in einen Erlenmeyerkolben von passender Grösse, setzt Wasser zu, verschliesst mit einem Kautschukstopfen und schüttelt kräftig bis zur völligen homogenen Verteilung des Filters. Man spült dann den Stopfen gut in dem Kolben ab und leitet bis zur völligen Zersetzung des Niederschlages H_2S ein. Hierauf spült man den Kolbeninhalt quantitativ in eine geradwandige Krystallisierschale und verdampft auf dem Wasserbade zur Trockne. Dann übergiesst man den Rückstand mit heissem Wasser und digeriert kurze Zeit auf dem kochenden Wasserbade, ehe man durch ein kleines Filter filtriert. Die Filtration geht in den allermeisten Fällen glatt vonstatten, das ursprünglich kolloid abgeschiedene Silbersulfid ist durch das Eindampfen zur Trockne ausgeflockt. Sollte jedoch beim Waschen wieder kolloide Lösung eintreten, so kann man Filtrat und Waschwasser noch einmal zur Trockne bringen, wobei dann der durchs Filter gegangene Rest endgültig ausflockt, und den Rückstand nun noch einmal mit heissem Wasser behandeln und filtrieren. Ist jedoch sehr viel Farbstoff mit ausgefallen, so behält das Silbersulfid die Neigung, kolloid zu bleiben. Man tut in einem solchen Falle am besten, die durch das kolloide Silbersulfid braun bis schwarz gefärbte Flüssigkeit noch einmal mit einem klaren Gemisch von ammoniakalischer Silberlösung und Magnesiamixtur zu fällen und mit der Fällung den Gang noch einmal zu wiederholen. Jetzt kommt man sicher zu einem klaren Filtrate, welches die gesamte Harnsäure als Magnesiumsalz enthält.

b) Ist im Niederschlag Chlorsilber enthalten oder wenigstens der Verdacht auf dessen Anwesenheit vorhanden, so bringt man den gewaschenen Niederschlag mit Wasser und etwas Kupferacetatlösung samt dem Filter in einen Erlenmeyerkolben, verteilt ihn wie bei a), erhitzt aber vor dem Einleiten von Schwefelwasserstoff zum Sieden. Bei Anwesenheit von viel Wasser (200 ccm) kocht man nach dem völligen Zerlegen des Purinniederschlags solange weiter, bis aller Schwefelwasserstoff entfernt ist und ein in die Dämpfe gehaltenes, mit Bleizuckerlösung befeuchtetes Papier nicht gebräunt wird. Dann filtriert man möglichst rasch, am besten auf einer Nutsche, und wäscht mit heissem Wasser gründlichst aus. Das Filtrat enthält infolge des gleichzeitig ausgefallenen Kupfersulfids kein kolloides Silbersulfid, es ist in gelungenen Fällen blank.

Die nach a) oder b) erhaltenen Filtrate, welche stets ganz klar sein sollen, werden nach Zusatz einer geringen Menge konzentrierter Salzsäure in einer geradwandigen Krystallisierschale von passender Grösse, welche das bei Verwendung runder Krystallisierschalen unausbleibliche vorzeitige Eintrocknen der Randpartien der Lösung vermeidet, auf ein möglichst kleines Volumen eindampft. Um in Fällen, wo wenig Harnsäure in einem grossen Volumen vorhanden und daher die Verwendung einer grossen Schale zum Eindampfen nötig war, auf das nötige kleine Volumen zu kommen, ist es gut, nach dem Einengen in eine nun

Digitized by Google

möglichst klein zu wählende Schale zu überspülen und weiter einzudampfen. Ist sehr wenig Harnsäure zugegen, so fällt erst nach längerem Stehen in dem auf 1 ccm und weniger eingeengten Filtrate die Harnsäure aus. Man lässt daher bedeckt mindestens 24 Stunden stehen. Die mikroskopische Untersuchung der erfolgten Abscheidung in der Krystallisierschale selbst, die immer vorgenommen werden sollte, ergibt in den meisten Fällen die charakteristischen Formen der Harnsäure ohne fremde Beimengung. Waren die Krystalle erst in der Kälte ausgefallen, so zeigen sie oft das glasklardurchsichtige Verhalten, welches wohl auf einen Gehalt an Krystallwasser zurückzuführen ist. Erhitzt man nur kurz auf dem Wasserbade, so werden die Krystalle sehr schnell opak und erscheinen dann in der gefärbten Mutterlauge bei Beobachtung mit dem unbewaffneten Auge fast weiss. Sie sind aber fast immer stark gefärbt.

Die Trennung der ausgeschiedenen Harnsäure von der Mutterlauge und ihre Messung kann wie oben erfolgen. Ich ziehe es vor, die Krystalle mit ihrer Mutterlauge auf einen Gooch- oder Neubauertiegel zu bringen und vor der Pumpe mit verdünnter Schwefelsäure salzsäurefrei und dann weiter je sechsmal mit Alkohol und Äther zu waschen. Eine Stunde Trocknung bei 80^{0} genügt zur Erzielung der Gewichtskonstanz. Die Grösse der für die Löslichkeit der Harnsäure in der Mutterlauge und in der Waschflüssigkeit anzubringenden Korrektur ist unsicher. Daher wäre es von Vorteil, wenn man das Verfahren von Kóssa (S. 1065) in Anwendung bringen könnte: Verdampfen zur Trockne, Lösen in warmer konzentrierter Schwefelsäure (eventuell Filtrieren durch Asbest) und Fällen mit Alkohol. Über die Brauchbarkeit dieses für die Bestimmung der Harnsäure im Vogelharn angegebenen Verfahrens für den Säugetierharn habe ich noch keine Erfahrungen. Wenn die Purinbasen hierbei nicht mit gefällt werden, so wäre es die beste Abscheidungsform der Harnsäure zur Wägung; da in der Mutterlauge und in dem Waschalkohol keine Harnsäure gelöst bleibt, so fällt jede Korrektur der durch die Wägung gewonnenen Zahl fort und man hat den Vorteil, an der Hand der Wage bis zur völligen Reinheit, d. h. bis zur Gewichtskonstanz zu waschen.

2. Nach Krüger und Schmid.

Prinzip, Erfordernisse und Ausführung sind bereits S. 927 angegeben worden. Dem dort Gesagten ist nur hinzuzufügen, dass man das Filtrat vom Kupfersulfür ebenso behandelt wie die Filtrate vom Silbersulfür bei der Ludwigschen Methode, d. h. man engt mit Salzsäure ein und trennt die ausgefallene Harnsäure wie oben von der Mutterlauge. Die Messung der abgeschiedenen Harnsäure kann in einer der unter I beschriebenen Methoden oder in der zuletzt beschriebenen Weise vorgenommen werden. Ganz besonders sei auf die Zusätze, welche Benedikt und Saiki sowie Schittenhelm zu dieser Methode gemacht haben, S. 928, hingewiesen.

Digitized by Google

3. Nach Hopkins[1]).

A. Prinzip. Das Verfahren ist aus dem von Fokker angegebenen hervorgegangen, bei welchem der Harn mit einer beschränkten Menge Salmiaklösung versetzt wird, um die Harnsäure als Ammonurat abzuscheiden. Die Fällung ist aber dabei eine unvollständige. Völlig unlöslich ist dagegen, wie Hopkins gezeigt hat, das Ammonurat in einer ganz oder nahezu ganz gesättigten Chlorammonlösung. Aus dem Ammonsalz kann die Harnsäure durch Salzsäure abgeschieden und ihre Menge durch Wägen oder Titrieren bestimmt werden; auch lässt sich das Ammonurat direkt titrieren.

Andere Ammonsalze fällen die Harnsäure auch, aber, nach Hopkins, nicht so gut als Salmiak; bei Verwendung von Ammonsulfat ist die Fällung nach Edmunds[2]) erst in einigen Tagen vollendet.

Reine Harnsäure fand Hopkins bei seinen Bestimmungen durch Wägen bis auf 1 % wieder; von 0,1 g fehlte 1 mg. Aus Harn fällt beim Sättigen desselben mit Salmiak die Harnsäure so vollständig, dass man im Filtrat auf keine Weise Harnsäure auffinden kann, und die Abweichung der Bestimmung der Harnsäure im Harn (durch Wägen) braucht von der nach Ludwig 1 % nicht zu überschreiten.

Ausser der Harnsäure werden nach Hopkins noch Farbstoffe und Xanthin gefällt, Hypoxanthin und Kreatin dagegen nicht. Bei der Zerlegung des Ammonurats mit Salzsäure wird das Xanthin ganz und der Farbstoff grösstenteils entfernt. Sie beeinträchtigen also die Bestimmung durch Wägen und Titrieren nicht, bei der Titrierung des Ammonurats kann aber nach Hopkins das Xanthin einen Fehler veranlassen. Doch kann der durch die Gegenwart des Xanthins im Salmiakniederschlag bedingte Fehler, wenn er überhaupt besteht, nur sehr gering sein, da Ritter[3]) im Mittel auf sieben Bestimmungen durch Titrieren des Ammonurats aus Harn mit Permanganat nur 0,7 % mehr Harnsäure fand, als durch Wägen und bei der Bestimmung reiner Harnsäure diese Abweichung 1,5 % betrug. Der Unterschied lässt sich zwanglos aus einem Verlust an Harnsäure beim Auswaschen derselben erklären. Die ausgewaschene Harnsäure enthält nach Hopkins nur eine Spur unverbrennliche Substanz.

Eiweiss scheint keinen oder nur einen geringen Einfluss auf die Genauigkeit der Bestimmung zu haben; es wird durch den Salmiak nur unvollständig gefällt und das etwa niedergeschlagene Eiweiss wird bei der Behandlung des Niederschlags mit Salzsäure und beim Auswaschen entfernt. Gallenfarbstoff wird zwar mit gefällt, aber der Fehler ist nach Hopkins schliesslich doch nur gering.

B. Erfordernisse.

1. Reines Chlorammon. Der Salmiak, welcher bei der Wägungsbestimmung der Harnsäure verwendet werden soll, darf nichts Unlösliches enthalten. Die Lösung des Salzes muss filtriert und durch Eindampfen zum Krystallisieren gebracht werden. Soll das Ammonurat (mit Permanganat) titriert werden, so muss das Ammonsalz frei sein von Ferrosalz, welches es in der Regel enthält.

2. Reines Ammonsulfat. Dasselbe dient zum Wegwaschen des Chlorammons, wenn das Ammonurat als solches titriert werden soll. Es darf kein Ferrosalz und Chlor nur in Spuren enthalten. Vom Chlor befreit man es durch Um-

---

[1]) F. Gowland Hopkins, Guys Hospital Reports 48. 299. 1891; Zentralblatt f. d. med. Wissensch. 1892. 931. — Proceedings of the London roy. Soc. 52. 93. 1892; Chem. Zentalbl. 1892. 2. 269. — The Journal of Pathology and Bacteriology 1. 451. 1893.

[2]) A. Edmunds, Journ. of Physiol. 17. 452. 1895.

[3]) G. v. Ritter, Zeitschr. f. physiol. Ch. 21. 291. 1895.

Digitized by Google

krystallisieren. Um das Ferrosalz zu entfernen, lässt man die Lösung des Ammonsulfats nach Zusatz einer reichlichen Menge von Schwefelammon in einer verschlossenen Flasche stehen, bis sich das Schwefeleisen am Boden abgesetzt hat, filtriert dann und dampft zur Krystallisation ein. Filtriert man, wenn das Schwefeleisen noch suspendiert ist, so geht es mit durch das Filter. Das Salz muss zur Entfernung ausgeschiedenen Schwefels noch umkrystallisiert werden und bei dieser Gelegenheit entfernt man zugleich das Chlor. Die Lösung braucht nur zu 0,9 gesättigt zu sein; um diese Lösung zu erhalten, mischt man 9 Vol. der ganz gesättigten Lösung mit 1 Vol. Wasser.

Das Chlorammon befreit man vom Ferrosalz ebenso wie das Ammonsulfat, oder man versetzt die Lösung mit Chlorwasser, macht mit Ammoniak alkalisch und filtriert, wenn sich das gebildete Eisenoxyd abgeschieden hat. Dieses Verfahren ist für die Reinigung des Ammonsulfats nicht verwendbar, da dieses chlorfrei sein soll.

C. Ausführung.

In 100 ccm Harn werden 30 g Salmiak in der Kälte gelöst. Die anfangs gleichmässig trübe Flüssigkeit klärt sich beim Stehen in dem Masse, als sich das Ammonurat absetzt. Der Niederschlag kann schon 2 Stunden nach Herstellung der Lösung filtriert werden. Man bringt ihn auf ein kleines Filter, wäscht ihn 3—4 mal mit einer gesättigten Chlorammonlösung nach, die man zugleich zum Nachspülen des Becherglases benutzt. Dann spritzt man den Niederschlag vom Filter und den etwa noch im Becherglas befindlichen Rest mit Wasser in eine kleine Schale, erhitzt bis zum Sieden und setzt einige ccm konzentrierter Salzsäure zu. Das Urat geht dabei vollständig in Lösung und beim Erkalten krystallisiert die Harnsäure aus. Macht die Flüssigkeit mehr als 20—30 ccm aus, so dampft man sie vor dem Zusatz der Salzsäure auf ungefähr dieses Volumen ein. Nach 2stündigem Stehen der mit Salzsäure vermischten Flüssigkeit kann die Harnsäure abfiltriert werden.

Zur Sättigung von 100 ccm Wasser sind bei 15° 35,3, bis 20° 37,3 g Salmiak erforderlich; die 30 g Salmiak, welche man in 100 ccm Harn lösen soll, genügen aber zur vollständigen Abscheidung der Harnsäure. Man kommt schneller und sicherer zum Ziele, wenn man die erforderliche Menge Salmiak abwägt, als wenn man den Harn mit ungewogenen Mengen Salmiak zu sättigen versucht. Auch ist es vorteilhaft, den Salmiak fein zu pulvern. Nach zweistündigem Stehen der Lösung ist alles Ammonurat ausgefallen; das Filtrat bleibt wochenlang klar. Ist man verhindert, den Niederschlag bald abzufiltrieren, so kann man ihn mit etwas Phenol versetzen, um die das Filtrieren erschwerende Verpilzung zu verhindern. Das Filtrat soll völlig klar und glänzend sein; geht es trübe durch das Filter, so kann man versuchen, es durch wiederholtes Aufgiessen auf dasselbe Filter zu klären, doch gelingt das nicht immer.

Ein Zusatz von Ammoniak beschleunigt die Abscheidung des Ammonurats; doch darf man das Ammoniak erst nach dem Auflösen des Salmiaks hinzufügen, weil sonst Erdalkaliphosphat gallertig ausfällt, welches das Filtrieren verhindert. Aus dem mit Salmiak gesättigten Harn scheidet das Ammoniak nur spärliche, für das Filtrieren belanglose Tripelphosphatkrystalle ab. Auch Crouson und Vilaret halten bei der Fällung des Ammonurats die alkalische Reaktion für nötig [1]).

Enthält die abgemessene Harnmenge ein Uratsediment, so ändert dieser Umstand nichts an dem Verfahren. Ein geringes Phosphatsediment lässt man unberücksichtigt, ein sehr grosses soll nach Hopkins abfiltriert und mit heissem Wasser gewaschen werden.

[1]) Aly Zaky, C. r. soc. biol. 53. 830. 1901.

Digitized by Google

Ist das Ammonurat stark gefärbt, so muss es in Gegenwart von Alkohol zerlegt werden. Man spült das Urat mit halbverdünntem rektifizierten Weingeist vom Filter in ein Becherglas, setzt Salzsäure zu, erhitzt zum Kochen und lässt das mit einem Uhrglas bedeckte Becherglas noch einige Zeit auf einem Wasserbad stehen; die Harnsäure muss darauf gut ausgewaschen werden.

Die ausgeschiedene Harnsäure sammelt man, wie bei II. 1. entweder auf einem Glaswoll- oder Asbestfilter, wäscht sie aus, trocknet und wägt sie mit dem Filter; oder man sammelt sie auf einem gehärteten Filter, spült sie nach dem Waschen in eine Schale, trocknet und wägt. Für je 15 ccm Mutterlauge zählt man der gewogenen Harnsäure 1 mg zu; für das Waschwasser ist dagegen nach Hopkins eine solche Korrektur nicht nötig.

Die Harnsäure lässt sich auch nach einer der unter I. 1., 2. oder 3. c. beschriebenen Arten titrieren; für die acidimetrische Bestimmung (1.) muss die Harnsäure vorher von der Salzsäure frei gewaschen werden. Die Titrierung mit Permanganat (I. 2.), sowie die mittelst Cyankalium (I. 3. c.) lässt sich auch direkt auf das Ammonurat anwenden, so dass man die Reindarstellung der Harnsäure ersparen kann. Hopkins hat die Titrierung mit Permanganat für klinische Zwecke vorgeschlagen, v. Ritter[1]) hat aber nachgewiesen, dass dieses Verfahren ebenso genaue Resultate liefert, wie die Bestimmung der Harnsäure als solche, und dass es also allgemein anwendbar ist. Das Ammonurat muss dazu frei von Chlorid gewaschen werden, weil Salzsäure durch das Permanganat gleichfalls oxydiert wird.

Man wäscht mit der zu 0,9 gesättigten Ammonsulfatlösung (B. 2.). Das Auswaschen auf einem Papierfilter nimmt nach v. Ritter zwei Tage in Anspruch und man sollte daher Glaswollfilter anwenden, bei denen man aber wieder sehr leicht Gefahr läuft, Harnsäure zu verlieren. Die schädliche Wirkung der Salzsäure auf das Permanganat durch Zusatz von Manganosalz zu beseitigen, hat sich nach v. Ritter in diesem Falle nicht bewährt.

Für das Titrieren nach dem Cyankaliumverfahren braucht das Ammonurat nicht chlorfrei gewaschen zu werden; dieses Verfahren führt daher am schnellsten zum Ziel.

Ausführung nach Folin und Shaffer[2]).

A. Prinzip. Der Harn wird zunächst mit einem Reagens versetzt, welches Substanzen entfernt, die das ausfallende Ammonurat verunreinigen und indem sie ebenfalls Permanganat reduzieren, die durch Titration erhaltenen Harnsäurewerte höher ausfallen lassen als dem wirklichen Harnsäuregehalt entspricht.

B. Erfordernisse. 1. Eine Lösung, welche aus 500 g Amonsulfat, 5 g Uranylacetat, 60 g 10%iger Essigsäure und 650 g Wasser hergestellt wird.
2. 10% Ammonsulfatlösung.
3. $n/_{20}$ Kaliumpermanganatlösung

C. Ausführung. 300 ccm Harn werden mit 75 ccm der Lösung 1 versetzt und nach 5 Minuten von dem entstandenen Niederschlag ab-

[1]) G. v. Ritter, Zeitschr. f. physiol. Ch. **21**. 288.
[2]) Zeitschr. f. ph. Ch. **32**. 552. 1901.

Digitized by Google

filtriert. Zu je 125 ccm Filtrat werden 5 ccm der gewöhnlichen Ammoniaklösung zugesetzt und die Proben bedeckt bis zum nächsten Tage stehen gelassen. Das ausgeschiedene schön krystallisierte, aber gefärbte Ammonurat wird auf einem Filter gesammelt, mit Lösung 2 chlorfrei gewaschen und in der gewöhnlichen Weise mit Permanganat titriert. Für je 100 ccm Harn sind wegen der Löslichkeit des Ammonurats 3 mg Harnsäure dem Resultate als Korrektur hinzuzählen.

Ausführung nach G. Guérin[1]).

120—125 ccm Harn werden mit 1 g wasserfreier Soda versetzt und nach dem völligen Auflösen derselben filtriert. 100 ccm Filtrat werden dann mit 25 ccm einer Lösung versetzt, welche aus 50 g Ammonnitrat ad 100 Wasser und 5 ccm starker Ammoniaklösung besteht. Man lässt bis zum nächsten Tage stehen, filtriert das ausgeschiedene Ammonurat ab, wäscht es mit einer Lösung, welche 10 g Ammonnitrat und 1 g starkes Ammoniak in 100 Wasser enthält, chlorfrei, spült es dann mit 100 ccm Wasser in einen Erlenmeyerkolben, setzt 40 ccm 50%iger Schwefelsäure hinzu, erwärmt auf 50° und titriert mit Permanganat bis zur ersten Rosafärbung. Ein Gehalt an Eiweiss stört die Bestimmung nicht.

Ausführung nach Wörner[2]).

150 ccm Harn werden in einem Becherglase auf 40—45° erwärmt und darin 30 g Ammonchlorid aufgelöst, nach $^1/_2$—1 Stunde filtriert man das ausgefallene Ammonurat ab, indem man zuerst die Krystalle auf das Filter bringt und dann erst die Mutterlauge, welche man auch zum Auswaschen des Becherglases benutzt. Man wäscht das Ammonurat auf dem Filter mit Ammonsulfatlösung chlorfrei, löst es dann in 1—2%iger Natronlauge und wäscht das Filter mit heissem Wasser gründlich aus. Filtrat und Waschwässer werden durch Erwärmen von Ammoniak befreit und, nachdem dies erreicht ist, einer N-Bestimmung nach Kjeldahl unterworfen. Die Harnsäure enthält 4 N-Atome. Eine auf N berechnet normale Harnsäurelösung enthält also 168/4 = 42 g Harnsäure im Liter. 1 ccm einer n/10-Lauge entspricht daher 4,2 mg Harnsäure.

Nach Lewandowski muss man auch bei der Wörnerschen Ausführungsart der Hopkinsschen Methode den Harn neutralisieren (besser alkalisch machen), weil sich sonst nicht alles Ammonurat ausscheidet.

Nach Dimmrock und F. Brauson[4]).

100 ccm Harn werden mit 1 g Lithiumkarbonat 3 Minuten gekocht und dann filtriert. In 50 ccm des auf 50° erwärmten Filtrats werden 5 g Chlorammon gelöst und die Lösung in eine graduierte empirisch geeichte Röhre gegossen. Nach 4 Stunden liest man die Niederschlagshöhe ab und schätzt aus derselben die Menge des abgeschiedenen Ammonurats.

---

[1]) Journ. Pharm. Ch. **23**. 516. 1906.
[2]) Zeitschr. f. ph. Ch. **29**. 70. 1899.
[3]) Zeitschr. f. klin. Med. **40**. 199. 1900.
[4]) Brit. med. Journ. Oktober 1905. J. T. 36.

Digitized by Google

Zur Abtrennung des Ammonurats von seiner Mutterlauge bei der Hopkinsschen Methode bedienen sich Aufrecht [1]) und Kowarski [2]) nicht der Filtration, sondern der Zentrifuge.

4. Als Barytsalz.

Byasson fällt die Harnsäure aus dem Harn durch ein Gemisch von Chlorbarium und Bariumhydrat und titriert die Harnsäure in schwefelsaurer Lösung mit Permanganat. Baftalowskij schlägt sie mit Bariumhydrat nieder und bestimmt im Niederschlag den Stickstoff nach Kjeldahl; nach seinen Angaben stimmt das Mittel der Bestimmungen nach diesem Verfahren sehr gut zu dem Mittel der Bestimmungen nach Ludwig, in den zusammengehörigen Analysen weichen aber die Resultate beträchtlich voneinander ab. Mit reiner Harnsäure erhält man nach Geelmuyden [3]) durch Fällen mit Chlorbarium zwar gute Resultate, der Niederschlag aber, welcher mit Chlorbarium aus neutralisiertem unverdünnten Harn ausfällt, enthält mehr Stickstoff, als die nach Ludwig aus dem gleichen Volumen Harn gewonnene Harnsäure.

5. Als Zinksalz nach Bellocq [4]).

250 ccm Harn werden mit Natronlauge im Überschuss versetzt, dekantiert, mit Asbestpulver geschüttelt und filtriert. 200 ccm Filtrat werden dann mit 20 ccm einer durch Natronlauge und Soda alkalischen 30%igen Zinksulfatlösung behandelt. Der die Harnsäure als Zinkurat enthaltende Niederschlag wird nach dem Waschen durch Salzsäure zerlegt und die auskrystallisierte Harnsäure gewaschen und gewogen.

5. Durch Titrieren mit Silberlösung.

Bartley [5]) hat folgendes Verfahren vorgeschlagen, über dessen Genauigkeit noch keine weiteren Erfahrungen vorliegen. Es gründet sich, wie das Verfahren von Ludwig und von Haycraft, auf die Fällung der Harnsäure durch ammoniakalische Silberlösung; um aber die gleichzeitige Abscheidung der Xanthinbasen zu vermeiden, wird die Fällung in der Wärme vorgenommen. Es dient dazu eine $^1/_{50}$ n-Silberlösung, aus deren Verbrauch die Menge der Harnsäure berechnet wird.

Zu 50 oder 100 ccm klarem Harn werden 5 ccm Magnesiamischung und etwa 11 ccm 10 proz. Ammoniak (von 0,960 Dichte), jedenfalls aber in merklichem Überschuss zugesetzt. Die Mischung wird auf dem Wasserbad erwärmt und so lange mit Silberlösung versetzt, bis ein herausgenommener Tropfen auf einer weissen Unterlage mit Schwefelalkali einen schwarzen Niederschlag gibt. Damit in dem Probetropfen nicht Silberniederschlag enthalten sei, wird die Probe mit einer Pipette entnommen, an deren Ende behufs der Filtration ein Bäuschchen Watte befestigt ist. Wie besondere Versuche ergaben, tritt die Endreaktion erst dann ein, wenn 1 % der Harnmenge an Silberlösung mehr zugesetzt ist, als die Harnsäure zur Fällung erfordert. Der ccm der $^1/_{50}$ n-Silberlösung zeigt 3,36 mg Harnsäure an.

---

[1]) Berliner klin. Wochenschr. 1911. Nr. 48.
[2]) Deutsche med. Wochenschr. 37. 1112. 1911.
[3]) Byasson, Journ. de pharm. et de chimie 6. 20. 1882. — E. D. Baftalowskij, Wratsch 1888; Jahresber. f. Tierchemie 18*8. 128. — H. Chr. Geelmuyden, Zeitschr. f. analyt. Ch. 31. 166. 1892.
[4]) Journ. Pharm. Ch. 12. 103 4. 1900; Ch. Zeitschr. 1900. III.
[5]) E. H. Bartley, Journ. of the Amer. chem. Soc. 19. 649; Chem. Zentralblatt 1897. 2. 644.

Digitized by Google

7. Durch Reduktion von Jodsäure.

a) Nach Ruhemann[1]).

Nach Kalatschnikoff[2]) und nach J. Tzuschlewitsch[3]) ist das Verfahren von Ruhemann unbrauchbar.

b) Nach Merck[4]).

Ein abgemessenes Harnvolumen wird mit Weinsäure oder Zitronensäure und dann mit Jodsäure versetzt. Das in Freiheit gesetzte Jod wird mit Chloroform ausgeschüttelt, das Chloroform mit 50% Alkohol verdünnt und mit Thiosulfatlösung die Menge des abgeschiedenen Jods titriert.

8. Durch Reduktion von Silbersalz.

Roethlisberger[5]).

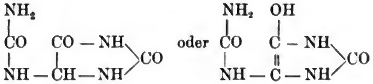
9. Bestimmung der Harnsäure im Vogelharn nach Kossa[6]).

Der Vogelharn wird 1—3 Tage mit schwefelsäurehaltigem 90%igem Alkohol stehen gelassen. Der Rückstand wird abfiltriert und mit warmem 90%igem Alkohol gewaschen. Hierauf wird der Niederschlag getrocknet in 10—20 ccm konzentrierter Schwefelsäure gelöst und die braune Lösung mit 200—400 ccm Alkohol gefällt. Die Harnsäure scheidet sich vollständig aus, wird mit Alkohol gewaschen und gewogen.

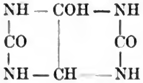
D. Das Allantoin.

$C_4H_6N_4O_3$. Mol.-Gew. 158. C = 30,33%; H = 3,83%; N = 35,44%.

I. II.



Mendel und Dakin[7]) halten wegen der optischen Inaktivität des Allantoins die zweite Formel für den richtigeren Ausdruck. H. Biltz[8]) diskutiert eine dritte Möglichkeit



Dagegen wenden H. J. Fenton und W. A. Wilks[9]) ein, dass das Allantoin eine Farbenreaktion gebe, welche für Ureide mit der Gruppe NH_2—CO—NH— charakteristisch sei. Eine Probe der zu untersuchenden Substanz mit einem Tropfen rauchender Salzsäure versetzt, erzeugt auf Methylfurilpapier einen blauen Fleck.

[1]) Berliner klin. Wochenschr. 1902. **27**. 55. 1905. 1252. (J. T. **36**. 308.)
[2]) Russki Wratsch 1902.
[3]) Diss. Petersburg 1906. J. T. **36**. 308.
[4]) Pharm. Zeitschr. **50**. 791. 1905.
[5]) Münch. med. Wochenschr. 1910. Nr. 7.
[6]) Zeitschr. f. ph. Ch. **47**. 1. 1906.
[7]) Journ. of biol. Ch. **7**. 153. 1909/10.
[8]) B. B. **43**. 1999. 1910.
[9]) Proc. Cambridg philos. soc. **16**. 64. 1911.

Digitized by Google

Vorkommen und physiologisches Verhalten. Das Allantoin wurde von Vauquelin und Buniva im Jahre 1749 in der Amnionflüssigkeit der Kühe entdeckt (Acide amniotique). Lassaigne fand den Stoff in der Allantoisflüssigkeit der Kühe und nannte ihn Acide allantoique [1]). Liebig und Wöhler gaben den jetzt gebräuchlichen Namen Allantoin [2]). Liebig fand es im Harn saugender Kälber [3]). Es findet sich im Harn aller Säugetiere in reichlicher Menge bei jeder Ernährung und im Hunger [4]). Mittlere Hunde scheiden in 24 Stunden 0,20—0,30, Kaninchen 0,07 bis 0,15 ccm aus. Der Menschenharn enthält nur wenig Allantoin. In 24 Stunden werden bloss 5—15 mg ausgeschieden. Im Harn des Säuglings fand Schittenhelm [5]) 1—2 mg auf den Liter. Die Angabe, dass das Allantoin im Harn von Schwangeren besonders reichlich vorkomme [6]), beruht auf einem Irrtum [7]). In dem Inhalt einer atresischen Blase eines Fötus fand Panzer nennenswerte Mengen von Allantoin [8]). Im menschlichen Fruchtwasser habe ich es vermisst [9]). Auch im Harn der Selachier scheint es zugegen zu sein (unveröffentlicht), ob es in dem der Amphibien einen normalen Bestandteil ausmacht, ist noch nicht sicher. Das Allantoin ist auch im Pflanzenreiche weit verbreitet. Schulze und Barbieri [10]) und Schulze und Bosshardt [11]) fanden es in den Trieben von Platanen- und Acerarten. In den sogenannten Weizenembryonen, einem Abfallprodukt der Müllerei, haben es Richardson und Crampton [12]), in der Rinde der Rosskastanie Schulze und Bosshardt [13]), im Rübensaft Lippmann [14]), in Bohnen und Linsen sowie im Brote Acroid [15]) nachgewiesen, in alten Kartoffeln fand ich es einmal in geringer Menge, in jungen einmal nicht. Von Wichtigkeit ist der von Acroid (l. c.) geführte Nachweis, dass die Kuhmilch viel Allantoin enthält. In den Hühnereiern hat es Acroid vermisst. (Über den Gehalt einzelner Nahrungsmittel an Allantoin vgl. die Tabelle auf Seite 917.) Zum Zwecke der Zusammenstellung einer allantoinfreien Kostordnung haben wir einige Nahrungsmittel auf Allantoin untersucht. Wir fanden es bei Verarbeitung von 2 kg Weizenmehl nicht,

---

1) Ann. de ch. et de Phys. **17.** 301. 1821.
2) Ann. Ch. Pharm. **26.** 245. 1838.
3) Wöhler, Ann. Ch. Pharm. **70.** 229. 1849; 88. 100. 1853.
4) Wiechowski, Hofmeisters Beiträge z. chem. Phys. u. Path. **11.** 109. 1907.
5) Zeitschr. f. d. ges. Phys. u. Path. d. Stoffw. **5.** 644. 1910.
6) Pouchet, Contr. à la Conn. des mat. extr. de l'urine. Paris 1880.
7) A. Scheib, unveröffentlicht.
8) Zeitschr. f. Heilk. **23.** 79. 1901.
9) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **60.** 180. 1909.
10) Journ. f. pr. Ch., n. F. **25.** 145. 1882.
11) Zeitschr. f. ph. Ch. **9.** 420. 1885.
12) B. B. **19.** 1180. 1886.
13) l. c.
14) B. B. **29.** 2645. 1896. — Smolenski, Zentralverb. deutsch. Zuckerindustr. 1910. 1215.
15) Bioch. Journ. **5.** 400. 1910.

Digitized by Google

ebensowenig in 2 kg junger Kartoffeln und im Spargel. Dagegen konnte aus 2 kg Sauerkraut Allantoin, allerdings in geringer Menge, erhalten werden (A. Scheib, unveröffentlicht).

Das Allantoin ist das Hauptendprodukt des Purinstoffwechsels der Säugetiere mit Ausnahme des Menschen und der anthropoiden Affen[1]). Es wird von Tier und Mensch nach subkutaner Injektion unverändert und quantitativ ausgeschieden[2]), von per os aufgenommenem Allantoin scheiden dagegen die Menschen nur einen geringen Bruchteil im Harn aus. Bei der weiten Verbreitung des Allantoins unter unseren Nahrungsmitteln ist die Möglichkeit gegeben, dass das Allantoin des Menschenharns rein exogener Natur ist[3]). Dem scheint aber nicht so zu sein. Es wurde auch im Hunger gefunden[4]) und bei einer Kost, welche auf Grund unserer Untersuchungen als allantoin- und purinfrei anzusehen war[5]). Die ursprünglich von mir gemachte Annahme, dass die geringen Allantoinmengen des Menschenharns einer minimalen Harnsäureoxydation ihren Ursprung verdanken, hat aber ihre Grundlage verloren, da der grösste Teil des vom Menschen auch bei sogenannten purinfreiem Regime ausgeschiedenen Allantoins sicherlich exogener Natur ist.

Alles, was oben über die Physiologie, Pathologie und Pharmakologie der Purinausscheidung der Säuger gesagt worden ist, gilt mit Ausnahme des Menschen und des anthropoiden Affen für das Allantoin. Das gilt insbesondere auch für die exogene Purinausscheidung der Säugetiere, welche quantitativ als Allantoin erfolgt (S. 924). Da das Allantoin infolge seiner leichteren Löslichkeit keine Retentionstendenz wie die Harnsäure hat, so bietet die Verfolgung der Allantoinausscheidung ein Hilfsmittel zur Entscheidung der Frage, ob ein Eingriff den Purinstoffwechsel beeinflusst oder nicht. Trotz gesteigerter Diurese änderte sich die endogene Allantoinausscheidung von Kaninchen nicht (Tagesperioden, unveröffentlicht). Die Angabe, dass die Hydrazinvergiftung zu einer besonders reichlichen Allantoinausscheidung Veranlassung gebe[6]), konnte für die Katze von Mendel und Brown[7]) nicht bestätigt werden. Mit einer einwandfreien Bestimmungsmethode habe ich mit A. Fröhlich keinen Einfluss der Hydrazinvergiftung auf den Purinstoffwechsel von Kaninchen und Hunden feststellen können

[1]) W. Wiechowski, Hofmeisters Beitr. z. chem. Phys. u. Path. **9**. 295. 1907; **11**. 109. 1907. — Schittenhelm u. Seisser, Zeitschr. f. exp. Path. u. Th. **7**. 116. 1909. — Underhill u. Kleiner, Journ. biol. Ch. **4**. 165. 1908. — Abderhalden u. Einbeck, Zeitschr. f. ph. Ch. **62**. 329. 1909. — Wiechowski, Prager med. Wochenschr. **37**. Nr. 22. 1912.

[2]) W. Wiechowski, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **60**. 185. 1909. — Schittenhelm u. Seisser, l. c.

[3]) Schittenhelm u. Wiener, Zeitschr. f. ph. Ch. **63**. 283. 1909. Acroid. l. c.

[4]) Asher, Biochem. Zeitschr. **26**. 370. 1910.

[5]) A. Scheib, unveröffentlicht.

[6]) Borissow, Zeitschr. f. ph. Ch. **19**. 499. 1894. — Poduschka, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **48**. 1902. — J. Pohl, ebenda **48**. 367. 1902.

[7]) Am. Journ. of phys. **3**. 261. 1900.

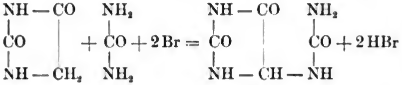
Digitized by Google

(unveröffentlicht). Auch die Angabe, dass bei der Autolyse reichlich Allantoin entstehe, beruht auf einem Irrtum (unveröffentlicht). Die Angabe über reichliches Auftreten von Allantoin im Menschenharn nach Genuss von Tannin bedarf noch der Nachprüfung. Feith (Diss., Bonn 1900) fand nach Tannin- und Thymusgenuss keine Allantoinausscheidung beim Menschen.

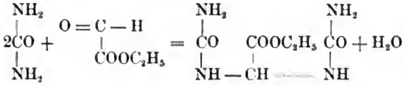
Das Allantoin entsteht im Säugetierkörper oxydativ aus der intermediär gebildeten Harnsäure oder möglicherweise auch direkt aus den Purinbasen. Eine synthetische Bildung aus purinfreien Vorstufen konnte nicht nachgewiesen werden [1]). Glycollyldiharnstoff geht beim Durchleiten durch die Hundeleber und bei Fütterung an Hunde in Allantoin über [2]). Die allantoinbildende Fähigkeit der Glyoxylsäure dagegen beruht vielleicht auf einer ohne Zutun des Organismus im Harn zwischen Harnstoff und Glyoxylsäure eintretenden Synthese [3]).

Bildung.

1. Aus Hydantoin und Harnstoff unter dem Einflusse von Brom (L. Siemonsen [4]).

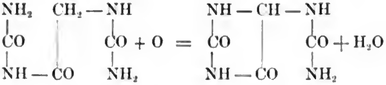


2. Aus Glyoxylsäure und Harnstoff [5]). Harnstoff und Glyoxylsäureester gehen unter Einfluss von Salzsäure in Allantoinsäureester über, aus welchem Ammoniak oder Lauge Allantoin frei macht [6]).



Adler [7]) prüfte, ob bei Zugabe von Glyoxylsäure zu Harn Allantoin entstehe.

Glykolyldiharnstoff wird beim Durchleiten durch die überlebende Hundeleber und bei Fütterung an Hunde zu Allantoin oxydiert (H. Eppinger [2]).



[1]) Nach Fütterung von Histidin. — Abderhalden, Einbeck u. Schmid, Zeitschr. f. ph. Ch. 68. 395. 1910.

[2]) Eppinger. Hofmeisters Beitr. z. ch. Phys. u. Path. 6. 287. 1905.

[3]) Adler, Arch. exp. Path. u. Pharm. 56. 207. 1907.

[4]) Ann. d. Ch. u. Pharm. 333. 101. 1904.

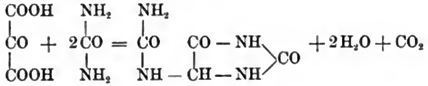
[5]) Grimaux, Ann. de ch. et de phys. 11. 389. 1877.

[6]) L. J. Simon u. G. Chavanne, C. R. ac. des sc. 143. 51. 1906.

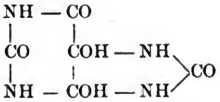
[7]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 56. 207. 1907.

Digitized by Google

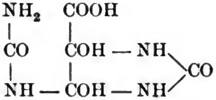
3. Aus Mesoxalsäure und Harnstoff



4. Ferner entsteht Allantoin bei der Oxydation der Harnsäure in alkalischer oder neutraler Lösung durch Permanganat etc. (s. S. 1026). Hierbei entsteht zunächst ein Zwischenprodukt, welches beim Eindampfen in saurer Lösung in Allantoin, beim Eindampfen in alkalischer Lösung in Uroxansäure übergeht. Dieses Zwischenprodukt ist nach Sundwik[1]) sowie Behrend[2]) Dihydroharnsäure.



Sundwik schreibt die Uroxansäure:



Aus diesem Zwischenprodukt, der Dihydroharnsäure, entsteht durch intramolekulare Umlagerung die S. 1026 bereits erwähnte Glycoluriloxycarbonsäure. Man kann sich das Zwischenprodukt auch als Glycolurilcarbonsäure denken, die durch Aufnahme von einem Molekül Wasser und Verschiebung der einen Harnstoffbindung direkt aus Harnsäure hervorgehen kann[3]).

Bei der Oxydation der Harnsäure durch Ozon kann man folgendes beobachten: Leitet man in eine Suspension von Natriumurat in Wasser 7—10%igen Ozon, so bemerkt man in kurzer Zeit, dass sich die Suspension klärt und schliesslich alles Ungelöste verschwindet. Die Flüssigkeit ist jetzt ganz klar. Bricht man in diesem Zeitpunkte den Versuch ab, so findet man in der Flüssigkeit reichlich Allantoin. Setzt man das Einleiten aber fort, so entsteht nach einiger Zeit unter Zersetzung des Allantoins wieder ein weisser, krystallinischer Niederschlag und in der überstehenden Flüssigkeit ist kein oder wenig Allantoin, dagegen

[1]) Zeitschr. f. ph. Ch. **41**. 343.

[2]) Ann. d. Ch. u. Pharm. **333**. 141; s. a. b. **Burian**, Zeitschr. f. ph. Ch. **43**. 528. 1905.

[3]) W. **Wiechowski**, Hofmeisters Beitr. z. ch. Phys. u. Path. **9**. 295 (1907).

Digitized by Google

andere Stoffe, die leicht krystallisiert zu erhalten sind, enthalten (v. Knaffl und Wiechowski, unveröffentlicht), deren Untersuchung noch aussteht.

Glatt erfolgt die Oxydation der Harnsäure zu Allantoin durch ein Ferment des Säugetierorganismus, die Uricooxydase [1]).

Eigenschaften. 1. Das Allantoin krystallisiert rein in grossen monoklinen Prismen mit hexagonaler Grundform, die oft zu sternförmigen Drusen vereinigt sind, unrein aber auch in Warzen und Körnern. Es reagiert neutral, löst sich schwer in kaltem Wasser (bei 20^0 nach Liebig und Wöhler in 160, nach Schulze und Barbieri in 186 Tln.), leichter in (30 Teilen) heissem, leicht in Laugen, in Piperazinlösung nach Salkowski leichter als in Wasser. Es löst sich auch, allerdings schwer, aber deutlich, in Alkohol, Amylalkohol und Aceton. In Äther ist es unlöslich. Dieser fällt das Allantoin aus den Lösungen in Alkohol oder Aceton in prächtigen weissen Krystallen [2]). Von Tierkohle wird Allantoin aus wässeriger Lösung in grösstem Umfange adsorbiert, aus alkoholischer Lösung jedoch gar nicht [2]).

2. Es verbindet sich mit Basen und mit Säuren zu Salzen. Von diesen Verbindungen sind namentlich die mit Silberoxyd und mit Quecksilberoxyd für den Nachweis des Allantoins wichtig. Durch die Bleiacetate, sowie durch Phosphorwolframsäure wird es nicht gefällt. Das Kalium-, Ammonium- und Bariumsalz krystallisieren. Das Kaliumsalz löst sich in 15 Teilen Wasser.

a) Allantoin-Silber, $C_4H_5AgN_4O_3$. Eine wässerige Allantoinlösung gibt mit salpetersaurem Silber keinen Niederschlag, wohl aber bei vorsichtigem Zusatz von Ammoniak, nach

$$C_4H_6N_4O_3 + AgNO_3 + H_4N . HO = C_4H_5AgN_4O_3 + H_4N . NO_3 + H_2O.$$

Der weisse Niederschlag löst sich leicht in Salpetersäure und in Ammoniak und tritt bei genauer Neutralisation der Lösungen wieder auf. Er besteht aus sehr kleinen durchsichtigen strukturlosen mikroskopischen Tröpfchen und erscheint in grösseren Massen flockig. Die ammoniakalische Lösung des Niederschlags verändert sich beim Kochen nicht und gibt nachher beim Neutralisieren den ursprünglichen Niederschlag wieder. Die Lösung des Allantoinsilbers in überschüssigem Ammoniak lässt auf Zusatz von reichlichen Mengen 10 % Silbernitratlösung den Niederschlag wieder ausfallen [3]). Statt mit verdünntem Ammoniak kann man auch durch Zusatz von Magnesiumoxyd das Allantoinsilber abscheiden [4]). Hierbei hat man den Vorteil, dass eine Wiederauflösung des einmal Gefällten nicht eintreten kann, da sich nur so viel Magnesiumoxyd löst, als der freiwerdenden Salpetersäure entspricht.

b) Allantoin-Quecksilberoxyd. Salpetersaures Quecksilberoxyd gibt mit Allantoinlösung sofort einen flockigen weissen Niederschlag, der sich anfangs beim Umschütteln, namentlich beim Erwärmen, wieder löst. Die Lösung bleibt auf Zusatz von kohlensaurem Natron klar, scheidet aber bei vorsichtigem Zusatz von Natronlauge einen weissen Niederschlag ab, der sich in einem Überschuss der Lauge löst und sofort, namentlich schnell beim Erwärmen, metallisches Quecksilber absetzt. Fügt man zu einer Allantoinlösung sogleich reichlich salpetersaures Quecksilberoxyd, so entsteht ein dauernder, im Überschuss des Reagens

[1]) Wiechowski, Hofmeisters Beitr. z. ch. Phys. u. Path. **9**. 295. 1907.
[2]) Wiechowski, unveröffentlicht.
[3]) Poduschka, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **44**. 59.
[4]) Löwi, ebenda **44**. 1. 1900.

Digitized by Google

nicht sichtlich, aber in Salpetersäure löslicher Niederschlag. Die Quecksilberfällung des Allantoins wird wie die Analoge des Harnstoffs durch Anwesenheit von Cl-Ionen gehemmt bis verhindert, auch Ammonsalze und hohe Harnstoffkonzentrationen hemmen [1]). Durch freies Alkali wird diese Hemmung aufgehoben. Das Allantoin fällt auch wie der Harnstoff mit dem Reagens von Freund und Fellner (S. 544) noch in grösster Verdünnung.

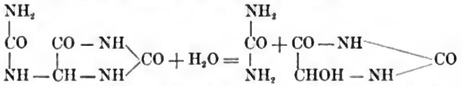
Eine 0,5%ige Lösung von Quecksilberacetat in 20%igem Natriumacetat fällt Allantoin praktisch quantitativ [1]), ohne den Harnstoff zu fällen. Die Lösung darf keine Chloride und Ammonsalze und nicht mehr als 1% Harnstoff enthalten und soll neutral oder von Magnesia eben alkalisch sein. Bei saurer Reaktion fällt das Allantoin nicht, bei von Laugen oder Alkalicarbonaten alkalischer Reaktion kann auch Harnstoff mit gefällt werden. Hat man die Lösung aber vorher mit Magnesia behandelt und filtriert, so reagiert sie zwar alkalisch, aber Harnstoff fällt hierbei nicht aus [2]). Der Niederschlag enthält auf 1 Mol. Allantoin 1,5 Atome = 3 Äquivalente Quecksilber [2]), er lässt sich mit Wasser gut waschen, worin er allerdings spurweise löslich ist bzw. Quecksilber verliert, und nach dem Lösen in Salpetersäure lässt sich sein Quecksilbergehalt bequem durch Titration mit Rhodansalz ermitteln.

Quecksilberchlorid gibt mit Allantoin keinen Niederschlag, ebenso nicht auf nachträglichen Zusatz von kohlensaurem Natron, wohl aber bei Zusatz von Natriumhydrat einen im Reagens löslichen Niederschlag, dessen alkalische Lösung gleichfalls unter Abscheidung von metallischem Quecksilber trüb und grau wird.

Allantoin löst Quecksilberoxyd beim Kochen auf, beim Erkalten erhält man eine Verbindung von 6 Allant. + 5 HgO. Diese zersetzt sich mit Wasser zu 3 Allant. + 2 HgO. Der Niederschlag durch Quecksilbernitrat soll die Zusammensetzung 4 Allant. + 5 HgO haben.

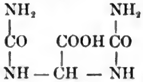
3. Zersetzungen.

a) Beim Erhitzen mit Salzsäure und anderen Säuren zerfällt das Allantoin in Allantursäure und Harnstoff·



Die Allantursäure ist identisch mit Glyoxalylharnstoff [3]). Man erhält sie durch Behandeln von Allantoin mit Salpetersäure oder Bleisuperoxyd und Wasser auch durch Erhitzen von Allantoin mit Wasser auf 140° [4]).

b) Eine frisch bereitete Lösung von Allantoin in Natron- oder Kalilauge gibt beim Übersättigen mit Säure (Essigsäure) sofort einen Niederschlag von Allantoin, nach mehrtägigem Stehen aber nicht mehr; sie enthält dann Allantoinsäure,



[1]) W. Wiechowski, Hofmeisters Beitr. z. chem. Phys. u. Path. 11. 109. 1907.
[2]) Unveröffentlicht.
[3]) Medicus, B. B. 10. 545. 1875.
[4]) Pelouze, Ann. Ch. Pharm. 44. 107. 1842.

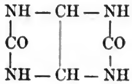
Digitized by Google

Beim Kochen mit Alkalien oder Barytwasser liefert Allantoin, wie bei der Zersetzung mit Säuren, gleichfalls zunächst Allantursäure und Harnstoff, die Allantursäure zerfällt aber weiterhin in Hydantoinsäure und Parabansäure und die Parabansäure in Oxalsäure und Harnstoff.

Würde die Hydantoinsäure weiter zu Glycin, Kohlensäure und Ammoniak zersetzt, so würden 2 Mol. Allantoin 2 Mol. CO_2 und 3 Mol. NH_3 geben, und bei der Zerlegung auch des Glykokolls würde noch 1 Mol. CO_2 hinzukommen. Diese vollständige Zersetzung erleidet nach Schöndorff das Allantoin beim Erhitzen mit alkalischer Chlorbariumlösung auf 230°; bei 150° entstehen (aus 2 Mol. Allantoin) 2 Mol. CO_2.

c) In Lösung[1]) und im Harn[2]) zersetzt sich das Allantoin spontan in längerer oder kürzerer Zeit auch bei Abwesenheit von Bakterien. Beim Kochen mit Wasser ist schon nach einer Stunde Zersetzung nachweisbar[1]). Die spontane Zersetzung wird bei alkalischer Reaktion (im Harn) besonders rasch eintreten.

d) Reduktion von Allantoin durch Jodwasserstoffsäure liefert Glycoluril oder Harnstoff und Hydantoin.



4. Allantoin reduziert bei anhaltendem Kochen Fehlingsche Lösung unter Abscheidung von Kupferoxydul.

5. Wie der Harnstoff gibt das Allantoin die Schiffsche Furfurolreaktion (S. 574), aber etwas weniger schnell und nicht so intensiv wie dieser (Schiff[3])).

6. Es gibt die Murexidprobe (S. 1029) nicht.

7. Nach Malerbe[4]) entwickelt das Allantoin bei der Einwirkung von Hypobromit die Hälfte seines Stickstoffs gasförmig.

8. Allantoin gibt nach vorläufiger Behandlung mit Salzsäure bei der Einwirkung von salpetriger Säure 68,6—99.5 % seines Stickstoffs als Gas ab, allen Stickstoff erst nach sehr langer Einwirkung der Salzsäure (Kreusler[5])).

9. Es gibt in typischer Weise die für Glyoxylsäure charakteristische Reaktion, wenn man in seinen Lösungen wenig Pepton oder Tryptophan auflöst und dann mit konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet. Es entsteht an der Schichtgrenze ein schön blauer Ring und beim Umschütteln färbt sich die ganze Flüssigkeit blauviolett[1]). In manchen Fällen lässt sich die Reaktion wie die der Glyoxylsäure durch Zugabe von einem Tropfen verdünnter Eisenchloridlösung verstärken[6]).

Darstellung. a) Aus Kälberharn. Derselbe wird im Wasserbad zum Sirup verdunstet und mehrere Tage in der Kälte stehen gelassen,

[1]) Wiechowski, Bioch. Zeitschr. **25**. 453. 1910.
[2]) Salkowski, Zeitschr. f. ph. Ch. **42**. 213. 1904.
[3]) H. Schiff, Berichte d. chem. Gesellsch. **10**. 774. 1877.
[4]) P. Malerbe, Berichte d. chem. Gesellsch. **19**. Ref. 252.
[5]) U. Kreusler, Landwirtsch. Versuchsstationen **31**. 309. 1885.
[6]) O. Adler (unveröffentlicht).

wobei Allantoin und phosphorsaure Magnesia auskrystallisieren und sich gelatinöse harnsaure Magnesia ausscheidet. Man trennt durch Schlämmen die Krystalle von der Gallert, kocht sie mit Wasser unter Zusatz von etwas Tierkohle, wobei der grösste Teil des Phosphats ungelöst bleibt, filtriert heiss, macht das Filtrat mit Salzsäure schwach sauer, wodurch das in Lösung gegangene Phosphat in Lösung erhalten wird, und lässt krystallisieren (Wöhler).

b) In bester Ausbeute erhält man das Allantoin aus Harnsäure nach dem S. 1026 beschriebenen Verfahren.

Nachweis. Bei den nur vieldeutigen Reaktionen des Allantoins kann sein Nachweis nur dann als erbracht gelten, wenn man es als solches krystallisiert abgeschieden und durch Bestimmung des Schmelzpunktes, der sich nach Mischung mit reinem Allantoin nicht ändern darf (234°), bzw. Feststellung, dass ein Zusatz des fraglichen Produkts den Schmelzpunkt von reinem Allantoin nicht verändert, identifiziert hat. Alle Reaktionen, die man mit dem isolierten Produkt anstellt, haben nur unterstützenden Wert. Hat man genügend Material, so kann man auch eine N-Bestimmung nach Kjeldahl oder Dumas ausführen. Reines Allantoin hat einen N-Gehalt von 35,44%.

1. Das Allantoin ist zunächst aus dem Harn zu isolieren.

a) Wenn man Harn oder einen alkoholischen Auszug desselben verdunstet hat, so kann das Allantoin auskrystallisieren und dann beim Lösen des Rückstands in Wasser als schwer löslicher Körper zurückbleiben. Natürlich gewährt dieses Verfahren keine Sicherheit und wäre zum Aufsuchen des Allantoins nicht zu empfehlen.

b) Sicherer ist folgende von G. Meissner[1]) angegebene Methode.

Man fällt Harn mit Barytwasser aus, neutralisiert das Filtrat genau mit Schwefelsäure, filtriert nochmals und dampft bis zur beginnenden Krystallisation ein. Die noch warme Flüssigkeit wird mit so viel Alkohol vermischt, dass ein sich gut abscheidender Niederschlag entsteht, die alkoholische Lösung abgegossen oder abfiltriert, und mit Äther vollständig ausgefällt. Beide Niederschläge, namentlich der mit Äther erhaltene, können das Allantoin in allerdings noch nicht charakteristischen Krystallen neben anderen Substanzen enthalten. Die Niederschläge werden mit wenig kaltem Wasser oder mit heissem Weingeist extrahiert, wobei das Allantoin zurückbleibt. Beim Umkrystallisieren des Rückstands aus heissem Wasser erhält man es alsdann sofort in den schönsten Krystallen ganz rein.

c) Ein anderes, gleichfalls von G. Meissner[2]) herrührendes Verfahren ist folgendes:

Der Harn wird mit Bariumhydrat, der gelöste Baryt mit Schwefelsäure genau ausgefällt und das alkalische Filtrat nun so lange mit Quecksilberchlorid versetzt, als noch ein Niederschlag entsteht. Derselbe wird sofort abfiltriert und die saure, viel überschüssiges Quecksilber enthaltende Flüssigkeit mit Kali- oder Natronlauge genau neutral gemacht, wobei aufs neue ein Niederschlag auftritt. Man setzt dann abwechselnd Sublimat und Alkalihydrat hinzu, bis bei neutraler Reaktion kein Niederschlag mehr entsteht (wobei man darauf zu achten hat, dass die Flüssigkeit nicht alkalisch wird: S. 1053. Beide Niederschläge können Allantoin (neben Harnsäure) enthalten. Sie werden gewaschen, in Wasser suspendiert,

[1]) G. Meissner, Zeitschr. f. rat. Med. [3]. 24. 104 u. 31. 297.

[2]) G. Meissner, Zeitschr. f. rat. Med. [3]. 31. 304.

Digitized by Google

mit Schwefelwasserstoff zerlegt, die Flüssigkeit heiss filtriert und zur Krystallisation verdampft.

d) Frerichs und Staedeler fällten den Harn mit basisch essigsaurem Blei und dampften das entbleite Filtrat stark ein, worauf das Allantoin in Körnern auskrystallisierte.

e) Pouchet fand es in der bei der Darstellung der Xanthinbasen bleibenden kupferhaltigen Mutterlauge neben dem Carnin.

f) Am zweckmässigsten wird es sein, sich der unten beschriebenen quantitativen Abscheidung des Allantoins zu bedienen (S. 1076).

2. Von einigen der erhaltenen, nötigenfalls nochmals umkrystallisierten Krystalle bereitet man sich in der Wärme in 10—15 ccm eine Lösung und prüft wie folgt:

a) Die Lösung darf weder mit Phosphorwolframsäure nach dem Ansäuern mit Mineralsäure, noch mit basischem Bleiacetat, noch mit Silbernitrat reagieren.

b) Ein Teil der Lösung wird mit salpetersaurem Silber versetzt, wobei sie klar bleibt, und dann sehr vorsichtig mit Ammoniak. Bei Gegenwart von Allantoin entsteht ein weisser, glitzernder oder flockiger Niederschlag, der aus kleinen mikroskopischen Tröpfchen besteht (S. 1052).

Man verfährt am besten so, dass man ein Tröpfchen Ammoniak an der Wand des Reagenzglases herablaufen lässt; bei der auf diese Weise bewirkten allmählichen Mischung entsteht ein wolkiger Niederschlag, der anfangs beim Schütteln wieder verschwindet, aber bei weiterem Zusatz von Ammoniak an Massigkeit zunimmt. Überschreitet man das erforderliche Mass von Ammoniak, so geht der Niederschlag wieder in Lösung, tritt aber wieder auf, wenn man nun ebenso vorsichtig salpetersaures Silber zusetzt. Das Verfahren ist also ganz dasselbe wie beim Nachweis der arsenigen Säure durch salpetersaures Silber. Beim Neutralisieren des Ammoniaks mit salpetersaurem Silber mengt sich dem Niederschlag aber Silberoxyd bei und er erscheint grau.

c) Ein anderer Teil der Lösung wird tropfenweise mit salpetersaurem Quecksilberoxyd versetzt. Der anfangs entstehende weisse flockige Niederschlag verschwindet beim Umschütteln wieder, wenn er nicht schon zu gross ist, und wird auf Zusatz von mehr Reagens dauernd. Ein paar Tropfen Natronlauge lösen den voluminösen Niederschlag sofort, die Lösung trübt sich aber alsbald und wird grau.

d) Ein dritter Teil der Lösung wird mit etwas frisch bereiteter verdünnter Fehlingscher Lösung schwach blau gemacht und anhaltend gekocht. Bei Anwesenheit von Allantoin scheidet sich, manchmal erst beim Stehen der Flüssigkeit, rotes Kupferoxydul ab.

e) Einem vierten Teil setzt man ein Stäubchen Witteschen Peptons zu und unterschichtet nach der Lösung mit konzentrierter Schwefelsäure. Nach kurzem Warten, während man das Röhrchen leicht schwenkt, ohne jedoch zu mischen, entsteht an der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten ein violetter Ring. Mischt man nun durch kräftigeres Schwenken, so färbt sich die ganze Flüssigkeit violett. Hat man zuviel Pepton zugesetzt, so nimmt die Färbung bei Anwesenheit von nur wenig Allantoin einen bräunlichen Stich an. Ist die Reaktion nicht sehr

Digitized by Google

deutlich, so kann man vor dem Mischen einen Tropfen einer verdünnten Eisenchloridlösung zusetzen, mitunter wird dann die Reaktion prachtvoll dunkelviolett.

f) Einige Kryställchen werden mit ziemlich konzentrierter Natron- oder Kalilauge gekocht, bis der entweichende Dampf befeuchtetes rotes Lackmuspapier stark bläut; dann wird die Flüssigkeit mit Essigsäure mässig übersättigt und mit einigen Tropfen Chlorcalciumlösung versetzt. Ein sofort eintretender feinpulveriger, in Essigsäure unlöslicher, in Salzsäure löslicher Niederschlag (von Calciumoxalat) weist auf die Gegenwart von Allantoin hin (S. 1054).

g) Man stellt mit einigen Kryställchen die Schiffsche Furfurolreaktion an.

h) Das Ausbleiben der Murexidreaktion schützt vor einer Verwechslung mit Harnsäure.

i) Zur weiteren Sicherung des Befundes kann man von einer grösseren Menge der Silberverbindung eine Silberbestimmung ausführen. Der Niederschlag wird mit Wasser silberfrei gewaschen, im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet und geglüht; die reine Verbindung hinterlässt dabei nach der Rechnung 40,75% Silber.

Man kann auch den Hg-Gehalt des mit dem S. 1053 angeführten Reagens gewonnenen Niederschlags ermitteln, welcher 3 Äquivalente Hg auf 1 Mol. Allantoin ausmacht. Sowohl Silber- als Quecksilbergehalt lassen sich bequem in der salpetersauren Lösung der betreffenden Niederschläge durch Titration mit n/10-Rhodanlösung ermitteln. 1 ccm der n/10-Rhodanlösung entspricht bei der Silberverbindung 15,8 mg, bei der Quecksilberverbindung 5,27 mg Allantoin.

Quantitative Bestimmung.

1. Mittelst des Silbersalzes.

Poduschka[1]) einerseits und Loewi[2]) andererseits haben das Allantoin im Harn durch Silberfällung niedergeschlagen. Poduschka fällte den Harn zunächst mit basischem Bleiacetat aus und das überschüssige Blei mit Natriumsulfatlösung. In dem Filtrat von diesem wurde das Chlor durch 10% Silbernitratlösung und in dem Filtrat vom Chlorsilber das Allantoin durch vorsichtigen Zusatz von verdünntem Ammoniak gefällt. Es wurde solange verdünntes Ammoniak zugesetzt, als der Niederschlag noch zunahm bzw. sich eben zu lösen begann, hierauf wurde ein grosser Überschuss an 10% Silbernitratlösung hinzugefügt, wodurch das etwa in Lösung gegangene Allantoinsilber wieder ausgefällt wurde. Der Silberniederschlag wurde mit verdünnter Natriumsulfatlösung ammoniakfrei gewaschen und der N-Bestimmung nach Kjeldahl unterworfen. Aus dem N-Gehalte wurde das Allantoin berechnet. 1 ccm $n/_{10}$ HCl = 0,00395 Allantoin.

Loewi fällt den Harn mit einer Lösung von Merkuronitrat aus, entquecksilbert das Filtrat durch Schwefelwasserstoff und trägt in dasselbe Silbernitrat und einen Überschuss von Magnesiumoxyd ein. Das gefällte Allantoinsilber wird gewaschen und mit dem beigemengten Magnesiumoxyd durch Schwefelwasserstoff zerlegt. Hierauf wird zur Trockene verdampft, mit Wasser ausgezogen und filtriert. In der nun von Harnstoff freien Lösung wird das Allantoin durch Merkuri-

[1]) Poduschka, l. c.
[2]) l. c.

Digitized by Google

nitratlösung niedergeschlagen, der Niederschlag gewaschen und der N-Bestimmung nach Kjeldahl unterworfen.

Die beiden Methoden haben keine befriedigenden Resultate geliefert, einerseits weil im Harn die Silberfällung unübersehbaren Hemmungen unterliegt, also dadurch nicht alles Allantoin niedergeschlagen wird, andererseits weil neben dem Allantoin auch andere Harnbestandteile bei diesem Vorgehen mit in den Silberniederschlag eingehen [1]). Die beiden Methoden sind daher nur kurz und nicht ausführlich wiedergegeben.

2. Nach Wiechowski [2]).

Prinzip. Der Harn wird mit Phosphorwolframsäure und basischem Bleiacetat völlig ausgefällt und bei Vorhandensein von Chlorwasserstoffsäure auch diese entfernt. In der von den Schwermetallen befreiten Flüssigkeit wird das Allantoin bei neutraler Reaktion durch eine 0,5%ige Quecksilberacetatlösung in 20%iger Natriumacetatlösung gefällt. Der Harnstoff bleibt hierbei quantitativ im Filtrat. Aus dem gewaschenen Niederschlag wird das Allantoin durch Schwefelwasserstoff frei gemacht und nach dem Eindampfen krystallisiert erhalten. Die Messung kann durch Wägung der Krystalle oder durch N- bzw. Hg-Bestimmung in dem Niederschlage erfolgen. Aus Tierharn wird hierbei das Allantoin rein erhalten.

Im Menschenharne, welcher sehr arm an Allantoin ist, überwiegen aber die mitgefällten Verunreinigungen, so dass noch eine Reinigung des ersten Niederschlags nötig ist. Notwendig ist es auch, das Allantoin aus Menschenharn zunächst durch eine vorläufige Fällung in einer Flüssigkeit von kleinerem Volumen anzureichern, ehe man die Fällung mit dem Allantoinreagens vornimmt.

Erfordernisse.

1. Phosphorwolframsäure kristallisiert von Merck.
2. Gewöhnliches Bleioxyd.
3. Eine Auflösung von 5 g Quecksilberacetat und 200 g Natriumacetat in 1000 Wasser. Man kann die Lösung auf der Wage herstellen, in dem man in einem Becherglase die festen Substanzen abwägt und dann Wasser bis zu 1 kg zusetzt. Nach der völligen Lösung wird die Flüssigkeit filtriert.

Ausführung.

Man bereitet 4—5 trockene Nutschen und Absaugkolben vor. Der auf ca. 1% Harnstoff verdünnte Harn (vom Menschenharn nehme man möglichst viel, die Verdünnung erfolgt später [s. bei b]) wird mit 1% Schwefelsäure und je nach der Harnmenge mit 5—20 ccm Essigsäure versetzt und in Proben à 2 ccm mit 50%iger Phosphorwolframsäure die gerade zur Ausfällung nötige Menge PWS ausgetastet. Aus dem Ergebnis dieser Prüfung berechnet man diejenige Menge fester PWS, welche man zu dem in Arbeit zu nehmenden Harnquantum zuzusetzen hat, um völlige Ausfällung zu erzielen. Nach dem völligen Auflösen der PWS, das man

[1]) Dakin, Journ. of biol. Ch. 3. 51. 1907.

[2]) Die Methode ist in Hofmeisters Beiträge z. Ch. Phys. u. Path. 11. 109. 1907 beschrieben worden. Hier teile ich zum ersten Male eine Reihe von Verbesserungen technischer Natur mit, wodurch die Methode in scheinbar geänderter Form erscheint (vgl. auch Wiechowski, Bioch. Zeitschr. 25. 431. 1910.

Digitized by Google

durch Rühren oder Schütteln befördert, lässt man zweckmässig mehrere Stunden stehen. Nun wird abgenutscht. Hierbei erweist sich die Anwendung eines Kieselgurfilters als sehr zweckmässig, da der PWS-Niederschlag die Neigung hat, durchs Filter zu gehen. Das Kieselgurfilter stellt man am besten so her, dass man etwas von der klar abgesetzten Flüssigkeit mit einer nicht zu grossen Menge Kieselgur (Kahlbaum) in der Reibschale verrührt, den dünnen Brei auf die Nutsche giesst und scharf absaugt. Auf dem so hergestellten Filter wird nun die ganze Menge vor der Pumpe klar filtriert. Das Filtrat wird im Absaugkolben mit so viel ordinärem Bleioxyd unter Rühren versetzt, bis die Flüssigkeit alkalisch reagiert. Hierbei geht folgendes vor sich: Das Bleioxyd löst sich in der Essigsäure und das gebildete Bleiacetat reagiert unter fortwährender Wiederbildung solange mit der PWS und Schwefelsäure, bis diese beiden Säuren vollständig niedergeschlagen sind; hierauf löst sich noch ein gewisser Betrag von Bleioxyd in der zurückbleibenden Bleizuckerlösung und die Flüssigkeit nimmt infolge der Bildung von basischem Bleiacetat alkalische Reaktion an. Insoweit das gebildete basische Bleiacetat durch Verbindung mit noch vorhandenen Harnbestandteilen verbraucht wird, wird es immer durch neuerliches Auflösen von dem im Überschusse vorhandenen Bleioxyd zuerst in der freigewordenen Essigsäure und dann in dem gebildeten Bleiacetat wieder regeneriert.

Vom abgenutschten Filtrat wird eine kleine Probe abgegossen und mit etwas Bleiessig versetzt; es darf keine Trübung entstehen. Die gleiche Probe wird nach dem Ansäuern mit Salpetersäure mit Silbernitrat auf Chlor geprüft. Ist solches in grösserer Menge, wie im Menschenharn stets, vorhanden, als dass nur eine unbedeutende Trübung entsteht, so muss es entfernt werden, denn es verhindert die spätere Allantoinfällung. Zu diesem Zwecke giesst man das ganze Filtrat in einen Messzylinder, liest das Volumen ab, säuert mit Essigsäure deutlich an und versetzt mit Silberacetatlösung bis zur völligen Ausfällung. Nun wird das Volumen wieder notiert und vom Niederschlag zweckmässig auf Kieselgur abgenutscht. In das Filtrat wird Schwefelwasserstoff eingeleitet, bis die Schwermetalle niedergeschlagen sind. Nutsche und Durchleiten von Luft durch das Filtrat, bis ein über die Flüssigkeit gehaltenes, mit Bleiacetat befeuchtetes Papier nicht mehr geschwärzt wird. Nun wird mit Magnesiumoxyd versetzt, bis die Flüssigkeit gegen Lackmus alkalisch reagiert und ein letztesmal abgenutscht. Von hier ab verfährt man im Menschenharn anders als im Tierharn.

a) Im Tierharn. Im Filtrat wird, wie vorher mit PWS, so jetzt mit dem Allantoinreagens (1% Quecksilberacetat und 20% Natriumacetat) die gerade zur völligen Fällung des Allantoins nötige Menge Reagens ausgetastet, wobei man soviel zuzusetzen hat, bis das Filtrat der Probe einerseits auf weiterem Reagenszusatz klar bleibt, andererseits auf Zusatz von einem Tropfen einer frisch bereiteten Allantoinlösung (verdünnt) sofort einen weissen, flockigen Niederschlag ausfallen

Digitized by Google

lässt. Die letztere Probe ist stets anzustellen, auch als Prüfung auf Abwesenheit von die Hg-Fällung hemmenden Stoffen. Nun misst man von dem Filtrat eine möglichst grosse Menge genau ab und fällt sie mit der berechneten Menge Reagens. Das abgemessene Flüssigkeitsquantum entspricht, sofern man nicht gezwungen war, etwa vorhandenes Chlor auszufällen, genau ebensoviel Harn, im letzteren Falle dagegen ist die entsprechende Harnmenge durch Multiplikation mit dem Quotienten: Volumen vor dem Silberzusatz durch Volumen nach dem Silberzusatz zu berechnen.

Das so als Quecksilberverbindung ausgefällte Allantoin ist rein und kann ohne erhebliche Fehler durch Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl oder Quecksilbertitration in dem gut gewaschenen Niederschlag gemessen werden. Der Niederschlag soll solange gewaschen werden, bis das Waschwasser nicht mehr mit einer verdünnten Mercurinitratlösung auf Harnstoff reagiert. Man kann den Niederschlag samt Filter oder ohne Filter nach Kjeldahl verbrennen, bei der Destillation setzt man zweckmässig einige ccm Thiosulfatlösung zu (S. 468). — Zur Hg-Titration löst man den Niederschlag auf dem Filter in verdünnter nitritfreier Salpetersäure, fängt die Lösung in einem Kölbchen auf, wäscht das Filter gut mit Wasser aus, versetzt die Lösung mit etwas Eisenammoniakalaun und titriert das vorhandene Hg mit n/20-Rhodankaliumlösung, deren Titer gegen eine n/20 Silbernitratlösung vorher bestimmt wird. — 1 ccm n/10-HCl = 0,0158 Allantoin, 1 ccm n/20-Rhodan = 0,002635 Allantoin.

Will man das Allantoin aus dem Niederschlage darstellen, so verfährt man in folgender Weise: Nach dem völligen Auswaschen breitet man das Filter auf einer dickeren Lage von Filtrierpapier aus, bis die Hauptmenge des Wassers ausgezogen ist, dann legt man es ausgebreitet an die Wand eines genügend grossen, über einem Erlenmeyerkölbchen befestigten Trichters und spritzt den Niederschlag mit 96%igem Alkohol unter Mithilfe einer Federfahne quantitativ in das Kölbchen. Hier wird er durch Schütteln fein verteilt und durch Schwefelwasserstoff zersetzt.

Reines Allantoinquecksilber schwärzt sich dabei sofort, sind auch nur wenige Verunreinigungen zugegen, so wird der Niederschlag durch H_2S zunächst gelb und erst allmählich schwarz. Nach der Zersetzung wird das überschüssige H_2S weggekocht, dann eine geringe Menge Tierkohle von Merck (pro analysi) zugesetzt und noch eine Zeitlang digeriert. Allantoin wird in alkoholischer Lösung von Tierkohle nicht adsorbiert, wohl aber in wässeriger Lösung sehr ausgiebig. Nun wird filtriert, zweckmässig über Kieselgur, und etwa 6 mal mit Alkohol gewaschen. Man bringt nun zur Trockene, nimmt mit heissem Wasser auf und filtriert vom Ungelösten ab. Beim Eindampfen des kalten, farblosen Filtrats krystallisiert das Allantoin sofort aus. Eventuell muss man nach dem Verdampfen mit wenig Wasser befeuchtet einige Zeit stehen lassen.

Digitized by Google

b) Im Menschenharn. Infolge der Geringfügigkeit der im Menschenharn vorkommenden Allantoinmengen bei gleichzeitiger Anwesenheit von viel Harnstoff erhält man durch Behandlung des Filtrats vom überschüssigen Magnesiumoxyd mit der Lösung 3 zunächst gar keinen Niederschlag und erst nach längerem Stehen eine schwache Trübung, die sich erst nach langer Zeit zu einem geringfügigen Niederschlag ausbildet, aus welchem Allantoin, wenn überhaupt, nur in unwägbaren Spuren darzustellen ist. Um das gesamte Allantoin zu gewinnen, ist es notwendig, es zunächst in einer Flüssigkeit von geringer Harnstoffkonzentration anzureichern, ehe man es mit Quecksilberacetat fällt. Diese Anreicherung geschieht dadurch, dass man es gleichzeitig mit einem Teil des vorhandenen Harnstoffs fällt, wobei alles Allantoin mitgefällt wird. Speziell darauf gerichtete Untersuchungen haben gezeigt, dass bei der fraktionierten Fällung des Harnstoffs das Allantoin als der leichter durch dieselben Reagentien fällbare Stoff stets vollständig in der ersten Fraktion enthalten ist und die späteren nichts mehr davon enthalten. Die Anreicherung des Allantoins geschieht am zweckmässigsten durch Mercuriacetat- oder Nitrat; man setzt von den Reagentien soviel zu, bis ein kräftiger Niederschlag entsteht und das Filtrat mit verdünnter Allantoinlösung sofort einen deutlichen Niederschlag gibt. Vorher soll man zweckmässig bis annähernd auf 1% Harnstoffkonzentration die zu fällende Flüssigkeit verdünnen. Am zweckmässigsten hat es sich mir erwiesen, die zur Erzielung einer 1—2%igen Konzentration von Mercuriacetat notwendige Menge abzuwägen, in wenig heissem Wasser zu lösen und unter Umrühren zuzusetzen. Die entstandene Fällung, die alles Allantoin enthält, wird nach mindestens 24 stündigem Stehen auf einem Filter gesammelt und ohne viel zu waschen in das Gefäss, in dem die Fällung vorgenommen worden war, zurückgespritzt, durch Schwefelwasserstoff zerlegt, in eine Schale übergeführt und zur Trockne verdampft. Das Eindampfen ist nötig, weil das Quecksilbersulfid oft kolloidal gelöst bleibt und erst beim Eintrocknen vollständig ausflockt, ist aber bei Verwendung von Mercurinitrat überflüssig und absolut zu vermeiden, weil der Mercurinitratniederschlag stets Salpetersäure enthält, welche bei der Zerlegung frei wird und in der Hitze das Allantoin zerstören würde. Man übergiesst den trockenen Sulfidniederschlag mit heissem Wasser, digeriert kurz und filtriert in 'eine Schale. Das Filtrat ist bräunlich gefärbt, man wäscht gründlich mit heissem Wasser aus und engt auf ein sehr kleines Volumen ein, spült in ein kleines Zentrifugierrohr, von 1 cm lichter Weite und 10 cm Länge, versetzt mit zwei Tropfen verdünnter Schwefelsäure und trägt in die nicht mehr als 5 ccm betragende Flüssigkeit feste Phosphorwolframsäure ein, bis zur vollständigen Fällung, wovon man sich durch einen Tropfen 50%iger PWS überzeugt. Der stets entstehende Niederschlag fällt um so massiger aus, je konzentrierter die Flüssigkeit ist. Nach einigem Stehen zentrifugiert man scharf und giesst die klare Flüssigkeit in einen kleinen Kolben möglichst vollständig ab. Waschen

Digitized by Google

lässt sich der Niederschlag nicht, weil er dabei teilweise in Lösung geht. Nun wird mit verdünnter Essigsäure (5—10 Tropfen) versetzt und durch Eintragen von Bleioxyd alkalisch gemacht, hierauf bringt man auf ein Filter und wäscht vollständig aus. Das Filtrat, welches sich unterdessen von ausfallendem Bleicarbonat trübt, wird durch Schwefelwasserstoff von Blei befreit, das Bleisulfid abfiltriert und ausgewaschen, Filtrat und Waschwässer durch einen Luftstrom vom überschüssigen Schwefelwasserstoff befreit und nach dem Neutralisieren mit Sodalösung mit der Lösung 3 das Allantoin gefällt. Den Niederschlag sammelt man nach dem klaren Absetzen auf einem Filter, wäscht ihn gründlich, zerlegt ihn mit Schwefelwasserstoff, verdampft zur Trockne, nimmt mit heissem Wasser auf, filtriert, engt ein und bringt wie oben in ein kleines Zentrifugierglas, in welchem man die ca. 5 ccm betragende Flüssigkeit mit einer 3%igen Lösung von Mercurisulfat in 10%iger Schwefelsäure tropfenweise vollständig ausfällt. Die Mercurisulfatlösung darf Allantoin auch bei geringstem Zusatze zu einer konzentrierten Lösung nicht fällen. Man hat sie daraufhin zu prüfen. Tut sie es doch, so muss sie sukzessive mit 10%iger Schwefelsäure versetzt werden, bis sie Allantoin absolut nicht mehr niederschlägt. Der braune Mercurisulfatniederschlag, der ebenfalls stets entsteht, wird nach ca. 12 Stunden abzentrifugiert und die klare weniggefärbte Lösung scharf abgegossen. Man befreit sie nach geringer Verdünnung mit Wasser durch Schwefelwasserstoff vom Quecksilber, filtriert, wäscht, bläst den überschüssigen Schwefelwasserstoff aus, neutralisiert mit Soda und fällt nun das Allantoin zum letzten Male mit Lösung 3. Mit diesem Niederschlag verfährt man nun genau so wie mit dem aus Tierharn erhaltenen, um das Allantoin krystallisiert zu erhalten. Die Krystallisation erfolgt stets nach einigem Stehen, die Mutterlauge ist nur wenig gefärbt. Man ist immer genötigt, auf ein sehr kleines Volumen, 0,5 ccm und weniger, einzuengen und soll daher entsprechend kleine, am besten geradwandige Krystallisierschälchen benützen. Zur Isolierung der Krystalle bringt man auf ein kleinstes gehärtetes Filter, saugt ab und wäscht mit Alkohol. Nach dem Trocknen bringt man die Krystalle mit einer Federfahne auf ein gewogenes Schälchen und wägt sie. Es folgt dann die Umrechnung des Resultats auf das Ausgangs-Volumen des Harns (s. o.). Das Ergebnis ist naturgemäss nicht quantitativ, da in der Mutterlauge noch Allantoin enthalten ist und man bei der zweiten Fällung mit PWS und der Fällung mit Mercurisulfat Verluste hat (diese lassen sich jedoch bei Verwendung von graduierten Zentrifugierrohren bestimmen). Ausdrücklich sei darauf hingewiesen, dass man mit dem letzten Quecksilberniederschlag des Allantoins aus Menschenharn nicht so verfahren darf, wie mit dem aus Tierharn erhaltenen, das heisst das in ihm enthaltene Allantoin weder durch N-Bestimmung noch durch Quecksilbertitration bestimmen kann. Im Menschenharn ist die Darstellung des Allantoins unerlässlich.

Digitized by Google

Anhang.

Urocaninsäure.

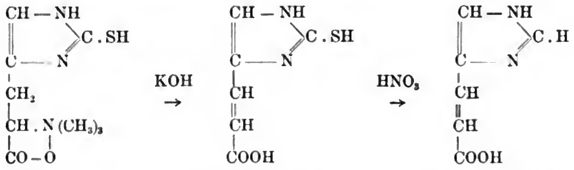
Von A. El inger-Königsberg.

Urocaninsäure.

$C_6H_6O_2N_2 + 2\,H_2O$.

Synonym: β-Imidazolyl-Acrylsäure.

Die Konstitution der Urocaninsäure hat Hunter aufgeklärt, indem er sie mit der Imidazolacrylsäure identifizierte, die Barger und Ewins[1]) aus Ergothionein, dem Betain des Thiohistidins, durch Einwirkung von Kalilauge und Behandeln der entstandenen Thioimidazolacrylsäure mit Salpetersäure nach folgendem Schema erhielten:



Ergothionein. Thioimidazolacrylsäure. Imidazolacrylsäure = Urocaninsäure.

Die Synthese der Säure gelang Barger und Ewins auch durch Einwirkung von Trimethylamin auf α-Chlor-β-imidazolylpropionsäure.

A. Vorkommen. Die Urocaninsäure wurde von Jaffé im Harn eines Hundes, der längere Zeit Fütterungsversuchen mit p-Nitrotoluol gedient hatte, entdeckt. Seitdem ist sie nur einmal wieder im Harn eines Hundes, dem mehrfach tellursaures Natron injiziert worden war, von Siegfried[2]) gefunden worden. Ein Zusammenhang des Vorkommens der Säure mit den Giftwirkungen ist unwahrscheinlich.

---

[1]) A. Hunter, Journ. of biol. chem. **11**. 536. 1912. — R. Barger und A. J. Ewins, Journ. chem. Soc. **99**. 2336. 1911.

[2]) M. Jaffé, Ber. d. chem. Gesellsch. **7**. 1669. 1874 und **8**. 811. 1875. — M. Siegfried, Zeitschr. f. physiol. Chem. **24**. 399. 1898.

Digitized by Google

Dass ihr Auftreten im Harn eine höchst seltene Erscheinung ist, geht daraus hervor, dass etwa 20 Jahre hindurch in Jaffés Institut der Harn aller Versuchshunde vergeblich auf Urocaninsäure geprüft wurde. Die Erforschung ihrer Konstitution erhielt einen neuen Anstoss, als Hunter die Säure einmal unter den Produkten einer mehrmonatigen Pankreatinverdauung von Kasein erhielt; die Bedingungen der Darstellung auf diesem Wege liessen sich von Hunter nicht reproduzieren. Eine Angabe von Swain, der eine ähnliche Substanz im Harn des Steppenwolfs (Canis latrans) gefunden haben wollte, veranlasste Hunter und Givens[1]) zu einer Nachprüfung. Sie fanden aber weder Urocaninsäure noch einen verwandten Körper in dem untersuchten Falle. In 110 Liter normalen Menschenharns suchte Siegfried vergeblich nach Urocaninsäure.

B. Eigenschaften. 1. Farblose, dünne tetragonale Prismen oder feine, luftbeständige Nadeln. Das Krystallwasser entweicht bei 105°. Löst sich schwer in kaltem, leichter in heissem Wasser, leicht in Eisessig, wenig in Alkohol, nicht in Äther, Aceton, Essigester und Schwefelkohlenstoff. In absolutem Alkohol werden die Krystalle trübe unter Verlust des Krystallwassers und zerfallen. Der Schmelzpunkt (unter Zersetzung) liegt nach Jaffé bei 212—213°, er schwankt mit der Schnelligkeit des Erhitzens, Siegfried gibt 229°, Hunter 224° (korr.) an, Löslichkeit in Wasser: bei 17,4° 0,15%, bei 18,7° 0,16%, bei 50° 0,77%, bei 63° 0,96% der wasserfreien Substanz (Siegfried). Die Säure ist optisch inaktiv (Hunter).

2. Die Lösung der Säure rötet Lackmus. Sie löst kohlensaures Barium und bildet mit vielen Oxyden zum Teil krystallisierende Salze. Sie fällt mit Sublimat und mit Silbernitrat; der Silberniederschlag vermehrt sich bei genauer Neutralisation mit Ammoniak, löst sich aber im geringsten Überschuss von Ammoniak oder Salpetersäure.

Die Urocaninsäure verbindet sich auch mit Mineralsäuren zu krystallisierenden Salzen, dagegen nicht mit organischen Säuren (Essigsäure, Oxalsäure). Das salzsaure Salz $C_6H_6N_2O_2$, HCl, krystallisiert aus heisser Salzsäure in feinen nadelförmigen, rhombischen Plättchen, ist luftbeständig, in Wasser äusserst leicht löslich. Das salpetersaure Salz, $C_6H_5N_2O_2$, HNO_3, fällt auf Zusatz von Salpetersäure zu einer wässerigen Lösung der Urocaninsäure in sichelförmig gebogenen, an den Enden gefranzten Plättchen, ist in verdünnter Salpetersäure fast unlöslich, ebenso in Alkohol, dagegen leicht in Wasser. Beim Erhitzen verpufft es unter Bildung roter Dämpfe. — Das schwefelsaure Salz, $2C_6H_6N_2O_2$, H_2SO_4, krystallisiert aus heißer verdünnter Schwefelsäure in mikroskopischen Nadeln und Plättchen, löst sich schwer in kaltem Wasser, nicht in Alkohol und scheint beim Waschen mit Wasser Säure zu verlieren (Jaffe). — Das Phosphorwolframat löst sich in heißem Wasser und krystallisiert daraus in kleinen Würfeln oder kurzen rechteckigen Prismen. — Das Pikrolonat fällt mit wässeriger

[1]) R. E. Swain, Amer. Journ. of Physiol. 13. 30. 1905. — A. Hunter and M. C. Givens, Journ. of biol. chem. 8. 449. 1910.

Digitized by Google

Pikrolonsäure gelatinös, aus alkoholischer Lösung körnig, schwer löslich in kochendem absol. Alkohol, leichter in kochendem Wasser, am besten in kochendem verdünntem Alkohol. Es krystallisiert in glänzenden gelben Nadelbüscheln, aus 25 %igem Alkohol in gelben rhombischen Plättchen. Es färbt sich bei 230° dunkel und zersetzt sich bei 268° (korr.). — Das Pikrat fällt allmählich beim Zusammenbringen der gesättigten Lösungen in gelben irisierenden Prismen, die bei 224—225° (korr.) schmelzen (Hunter).

Das Baryumsalz $(C_6H_5N_2O_2)$ Ba + $8H^2O$) erhielt Siegfried folgendermaßen: Die Säure wurde in überschüssigem Barytwasser gelöst, die Lösung nach Entfernung des überschüssigen Baryts mit Kohlensäure auf dem Wasserbad eingeengt und mit Alkohol bis zur Trübung versetzt. Nach zwei Tagen war das Salz fast vollständig in feinen, zu Büscheln vereinigten Nadeln auskrystallisiert. Das sehr leichte Salz verliert 6 Moleküle Wasser über Schwefelsäure und bei 100°, die 2 weiteren bei 150°.

3. Krystallisierte, wasserhaltige Urocaninsäure wird bei gewöhnlicher Temperatur von Eisessig gelöst. Plötzlich scheidet sich ein Brei mikroskopisch feiner Nadeln aus, die aus der Verbindung wasserfreier Urocaninsäure mit Eisessig bestehen, aber kein Acetat sind. Sie verlieren durch anhaltendes Waschen mit Äther Essigsäure und lassen sich bei 60° zu wasserfreier Urocaninsäure trocknen (Siegfried).

4. Die Säure gibt eine intensive Rotfärbung mit Diazobenzolsulfosäure (s. Histidin S. 633, 11.) (Hunter).

5. Sie reduziert kalte alkalische Kaliumpermanganatlösung unter sofortiger Abscheidung von Braunstein (Hunter).

6. Sie entwickelt mit salpetriger Säure keinen Stickstoff (Hunter).

7. Bei und schon unter ihrem Schmelzpunkt zersetzt sich die Urocaninsäure trocken erhitzt unter stürmischer Entwickelung von Kohlensäure und Abgabe von Wasser in eine Base, die Jaffe Urocanin nannte. Die Base konnte bisher ebensowenig wie eines ihrer Salze krystallinisch erhalten werden. Das Platinsalz gab auf die Formel $C_{11}H_{10}N_4O . H_2PtCl_6$ stimmende Werte, so dass Jaffe den Vorgang folgendermassen formulierte:

$$C_{12}H_{12}N_4O_4 = C_{11}H_{10}N_4O + CO_2 + H_2O.$$

und der Urocaninsäure die Formel $C_{12}H_{12}N_4O_4$ gab. Durch die von Hunter ausgeführte Molekulargewichts- und Konstitutionsbestimmung ist die doppelte Formel hinfällig geworden, und die Untersuchungen über die Entstehung der Base bedürfen der Wiederholung. Das Urocanin liefert nach Siegfried mit ammoniakalischer Silberlösung einen amorphen Niederschlag, ebenso mit Kupfersulfat und Natriumbisulfit oder mit alkalischer Kupferlösung und Hydroxylamin.

8. Siegfried beschrieb mehrere Einwirkungsprodukte des Broms auf Urocaninsäure, von denen aber keines krystallinisch erhalten wurde.

Digitized by Google

C. Darstellung und Nachweis. Der Urin wird auf dem Wasserbad zum Sirup eingedampft und wiederholt mit heissem Alkohol extrahiert. Von den vereinigten Auszügen wird nach 12—24 stündigem Stehen der Alkohol abdestilliert, der Rückstand mit verdünnter Schwefelsäure (1:4) stark angesäuert und mehrmals mit grossen Portionen Äther ausgeschüttelt. Nach dem Abgiessen der ätherischen Lösung ist der angesäuerte Harnrückstand fast zu einem Brei von Krystallen erstarrt, die abgesaugt, mit wenig kaltem Wasser gewaschen, mit Alkohol von anhaftendem Harnstoff befreit und durch einmaliges Umkrystallisieren farblos erhalten worden. Das so erhaltene Sulfat wird in heissem Wasser gelöst, mit Barytwasser die Schwefelsäure genau ausgefällt und heiss filtriert. Beim Erkalten krystallisiert die Säure aus. Aus dem Sulfat kann sie auch durch Lösen in Ammoniak und Ausfällen mit Essigsäure erhalten werden. Sie wird durch Umkrystallisieren aus Wasser gereinigt (Jaffe).

Vollständiger erhält man die Säure nach Siegfried, wenn man den von Phosphaten durch Baryt- oder Kalkhydrat befreiten Harn mit Chlorzink ausfällt und den Niederschlag entweder mit Schwefelwasserstoff oder mit Barythydrat zersetzt.

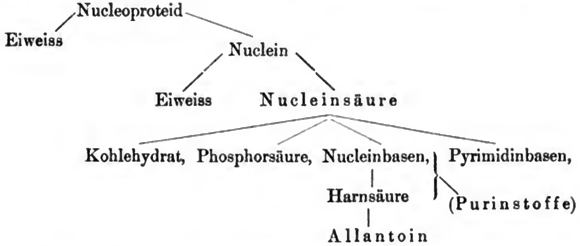
Zur Identifizierung dient die sub B. 2. beschriebene charakteristische Form des salpetersauren Salzes (Mikrophotogramme s. bei Hunter), sowie die sub B. 3., 4. und 5. angeführten Reaktionen.

Digitized by Google

Nucleinsäure.

Von W. Wiechowski-Prag.

Die Beziehung dieser Stoffe zueinander ergibt sich aus folgendem Schema, welches die Hydrolyse der Nucleoproteide und das weitere Schicksal der primären Spaltungsprodukte im Organismus darstellt.



Die Nucleoproteide sind zusammengesetzte Eiweisskörper, welche aus Eiweiss und der nicht eiweissartigen Nukleinsäure bestehen. Sie sind wesentliche Bestandteile der tierischen und pflanzlichen Zellkerne. Ob sich ihr Vorkommen aber auf die Kerne beschränkt, ist nicht sicher. Nucleoproteide sind aus fast allen Organen dargestellt worden, doch sind die Ausbeuten sehr verschieden und oft gering, zumeist dem Zellreichtum der Objekte entsprechend. Desgleichen enthalten die Spermatozoenköpfe, die Eiterzellen, Leucocyten und die Kerne der Vogel- und Reptilienerythrocyten Nucleoproteide[1]). Von pflanzlichen Nucleoproteiden ist wenig bekannt. Doch ist anzunehmen, dass die aus verschiedenen Pflanzen dargestellten Nucleinsäuren in den Zellen als Nucleoproteide an Eiweiss gebunden sind (Hefe, Weizenembryonen), wie auch die nicht methylierten Purine, die in manchen Pflanzenprodukten (z. B.

[1]) Literatur ausführlich bei A. Schittenhelm und K. Brahm, Handb. d. Biochemie, hgg. v. C. Oppenheimer, Jena, G. Fischer 1. 603 ff. 1909.

Digitized by Google

Leguminosensamen) reichlich vorhanden sind, in letzter Linie wohl Nucleoproteiden ihre Entstehung verdanken[1]). Über das Vorkommen nucleoproteidartiger Eiweissstoffe im Harn siehe S. 1179.

Man unterscheidet a- und b-Nucleoproteide, je nachdem sie aus den Organen durch indifferente Extraktionsmittel oder durch Auskochen erhalten worden sind. Die b-Nucleoproteide entstehen aus den a-Proteiden durch Abspaltung eines leicht koagulierbaren Eiweissanteiles. Aus den in einer dieser Weisen gewonnenen Extrakten werden die Nucleoproteide durch verdünnte Säuren (organische wie anorganische) gefällt oder können ausgesalzen werden.

Eigenschaften. Die Nucleoproteide sind weisse, amorphe, nicht hygroskopische, pulverförmige Stoffe, leicht löslich in Alkalien, wenig löslich in Wasser und Salzlösungen, unlöslich in Alkohol und Äther. Ihre wässerigen Lösungen reagieren sauer. Sie werden durch Hitze koaguliert und aus ihren Lösungen durch Salze, bei wechselnden Konzentrationen, und durch Säuren gefällt; letztere Fällungen lösen sich im Überschusse des Fällungsmittels teilweise oder ganz wieder auf. Die Nucleoproteide sind optisch aktiv, meist rechtsdrehend (Pankreas-, Thymus-, Nebennieren-Nucleoproteid), durch Pepsin-Salzsäure werden sie unter Lösung eines Eiweissanteiles gespalten, wobei die Nucleine[2]) entstehen.

Erkennung. Die Nucleoproteide werden an ihren Lösungsverhältnissen und Spaltungsprodukten erkannt. In der durch mehrstündiges Kochen mit 2—5%iger Schwefelsäure erhaltenen Flüssigkeit sind nach Entfernung des unzersetzten Eiweisses Purinbasen nachweisbar. Dieser Befund ist ausschlaggebend. Die Asche der Nucleoproteide enthält Phosphorsäure, doch ist dieses Verhalten nicht auf die Nucleoproteide beschränkt, sondern kommt auch anderen Eiweisskörpern zu.

Die Nucleine kommen im Organismus nicht präformiert vor. Sie werden bei der peptischen Verdauung der Nucleoproteide als unlösliche Rückstände erhalten. Sie sind amorphe, weisse Pulver, in Wasser, verdünnten Säuren, Alkohol und Äther unlöslich, löslich in Alkalien (in Barythydrat ganz unlöslich). Sie sind stärkere Säuren als die Nucleoproteide und haben eine starke Affinität zu Farbstoffen, insbesondere basischen. Bei ihrer weiteren Aufspaltung durch Fermente oder Alkalien entstehen unter Hydrolyse eines letzten Eiweissanteiles Nucleinsäuren.

[1]) Über bakterielle Nucleoproteide s. A. Lustig und G. Galeotti, Lo Sperimentale 63. 777. (1911).

[2]) L. Lilienfeld, Archiv f. Anat. u. Physiol. 1892. 128.

Digitized by Google

Nucleinsäuren.

Die Nucleinsäuren sind als Teilstücke der Nucleoproteide wesentliche Bestandteile der tierischen und pflanzlichen Zellen. Einige der hier zu besprechenden Substanzen werden aber im Organismus als intermediäre Abbauprodukte auch in freiem Zustande angetroffen.

Das Kennzeichnende aller zur Gruppe der Nucleinsäuren gehörigen Stoffe ist die Natur ihrer hydrolytischen Spaltungsprodukte. Diese sind: Phosphorsäure, Kohlehydrat, Purinderivate und Pyrimidinderivate. Doch finden sich in den einzelnen Gliedern der Gruppe diese Bestandteile nicht immer alle oder in gleicher Anzahl vor, so dass hier eine ganze Reihe chemisch und biologisch nahe verwandter Substanzen von komplizierteren zu einfachen verfolgt werden kann, als deren gemeinsames und für den hier behandelten Gegenstand ausschlaggebendes Merkmal lediglich der Gehalt an Purinstoffen hervortritt. Diese im Nucleinsäuremolekül vorgebildeten Purinstoffe sind die Aminopurine: Guanin und Adenin. Alle anderen im Organismus aufgefundenen Purine sind sekundär aus jenen entstandene Produkte.

Es ist sehr wahrscheinlich geworden, dass einerseits die Nucleinsäuren der tierischen Zellen: Sperma, Thymus, Milz, Pankreas etc. und andererseits die bisher näher untersuchten Nucleinsäuren des Pflanzenreichs, die Hefe- und die Triticonucleinsäure untereinander identisch sind und dass sich beide Typen vielleicht nur durch die Natur der Kohlehydratgruppe voneinander unterscheiden. Diese Nucleinsäuren enthalten die genannten Bestandteile alle. Ausser ihnen gehören aber hierher weiter zwei einfacher gebaute Säuren: die Guanylsäure und die Inosinsäure, welche bloss aus Kohlehydrat, Purinderivat und Phosphorsäure bestehen. Man kann sie als Produkte eines teilweisen Abbaus der höheren Nucleinsäuren auffassen, wie das P. A. Levene und W. A. Jacobs getan haben, welche Autoren sie in Anlehnung an die Nomenklatur der Eiweissspaltlinge als Nucleotide bezeichnen. Diese Stoffgruppe ist dadurch gekennzeichnet, dass ihre Angehörigen neben Kohlehydrat und Phosphorsäure nur einen der N-haltigen (Purin- oder Pyrimidin-) Ringe der höheren Nucleinsäuren enthalten. Schliesslich kommen hier noch Stoffe in Betracht, die zuerst als Produkte einer partiellen Hydrolyse der Nucleinsäuren und Nucleotide erhalten, von denen neuerdings aber auch einzelne als Produkte des tierischen oder pflanzlichen Stoffwechsels im Organismus gefunden worden sind, Stoffe, die nur mehr aus je einem Molekül Kohlehydat und einem der N-haltigen Ringe der Nucleinsäure bestehen. Sie werden von P. A. Levene und W. A. Jacobs wegen ihrer wahrscheinlichen Glykosidnatur Nucleoside genannt. Von diesen kommen für

uns nur die bereits genauer gekannten und untersuchten purinhaltigen Nucleoside in Betracht: Guanosin, Adenosin und deren Desaminoderivate: Xanthosin und Inosin[1]).

Alle diese Stoffe sind hier kurz zu besprechen, weil sie alle Purinstoffe enthalten und es nicht ausgeschlossen ist, dass ausser der Harnnucleinsäure, deren Natur noch nicht festgestellt ist, und dem Carnin noch andere dieser Substanzen im Harn aufgefunden werden.

Die Umrisse der chemischen Konstitution der zur Gruppe der Nucleinsäuren gehörigen Substanzen ergeben sich aus dem Vorstehenden. Die Nucleinsäuresubstanzen sind alle nach einem gemeinsamen Typus gebaut, welchem die Nucleotid-Struktur zukommt. Ein Phosphorsäure-Molekül ist durch ein Kohlehydrat-Molekül an einen N-haltigen Ring geknüpft. Die Variationen entstehen durch Verschiedenheit der N-Ringe und Zahl der zu grösseren Komplexen zusammentretenden Nucleotide, oder anders ausgedrückt die Nucleinsäuren bestehen aus durch Phosphorsäure-Moleküle miteinander verbundenen Nucleosiden.

Allgemeine Eigenschaften. Die Nucleinsäuren sind amorphe Substanzen und bilden ebensolche Salze. Einige Salze der Inosinsäure krystallisieren jedoch und die Nucleoside, denen mangels der Phosphorsäuregruppe der Säurecharakter abgeht, sind schon gut krystallisierte Stoffe. Die Nucleinsäure-Substanzen sind optisch aktiv. Die Löslichkeiten sind verschieden. In Wasser sind alle löslich, die niederen Glieder auch in Alkohol. Die Nucleinsäuren werden durch Bleizucker gefällt, die Nucleoside und die Nucleotide erst von Bleiessig und Ammoniak.

In vitro werden die Nucleinsäuren und die Guanylsäure aus den Nucleoproteiden, Nucleinen oder unmittelbar aus den nucleoproteidhaltigen Zellen durch Alkalihydrolyse in Lösung erhalten, aus der die Salze durch Alkohol, die freien Säuren durch Mineralsäure abgeschieden werden[2]). Weitere Alkalihydrolyse unter Druck spaltet Phosphorsäure ab und führt zu den Nucleosiden[3]). Säurehydrolyse spaltet von vornherein die Nucleoproteide und Nucleinsäuren wie auch die Nucleotide und Nucleoside in die letzten Bausteine auf (Aminopurine, Kohlehydrate, Pyrimidinbasen und Phosphorsäure).

Schicksal im Organismus. Beim Fermentversuch mit überlebenden Organen werden die zugefügten und die organeigenen,

---

[1]) P. A. Levene und W. A. Jacobs, B. B. 42. 2474 (1909) 44. 1027 (1911) Bioch. Z. 28. 126 (1910). P. A. Levene und F. B. La Forga, B. B. 43. 3164 (1910). Samuel Amberg und W. Jones, Zeitschr. f. ph. Ch. 73. 407 (1911).

[2]) A. Neumann, Arch. f. Anat. und Physiol. 1898. 374. 1899. Suppl. 552. O. Schmiedeberg, Arch. f. exper. Pathol. und Pharm. 57. 309. 190 (1907).

[3]) P. A. Levene u. W. A. Jacobs l. c.

Digitized by Google

aus den Nucleoproteiden durch Autolyse abgespaltenen Nucleinsäuren in ähnlicher Weise wie durch Hydrolyse im Glase zerlegt. Es treten freie Purinbasen und Phosphorsäure auf[1]). Die die Nucleinsäuren zerlegenden Fermente, die Nukleasen (Iwanoff[2])) sind ubiquitäre Fermente. In den Wasserauszügen fast aller tierischer Organe, in Hefe, Schimmelpilzen, Bakterien und höheren Pflanzen sind sie gefunden worden: in Extrakten von Darmschleimhaut[3]), im Presssaft von Pankreas und Kalbsthymus[4]), in allen kindlichen Organen[5]), in Leber und Eingeweiden von Macacus rhesus[6]), in der Leber von Scyllium catulus[7]), in Pankreas, Leber, Niere, Herz und Dünndarmschleimhaut vom Hunde[8]), im Dünn- und Dickdarm[9]). Nach dem Nucleasgehalt ordnen sich die tierischen Organe in folgende Reihe: Leber, Milz, Schilddrüse, Pankreas enthalten viel, Gehirn, Nebennieren, Lunge, Lymphdrüsen weniger; in Herz, Blut, Muskel und Serum ist nur wenig Nuclease enthalten[10]). Nucleasen wurden ferner gefunden in Schimmelpilzen[11]), in Bakterien[12]) und in der Hefe[13]). Die erste Stufe des fermentativen Nucleinsäureabbaus ist durch den Verlust des Gelatinierungsvermögens, welches manche Nucleatlösungen auszeichnet, charakterisiert. Weiter lassen sich dann bald Purinbasen und Phosphorsäure nachweisen und das Reduktionsvermögen der Lösung nimmt deutlich zu.

Zum Nachweis der Nuclease bedient man sich in letzter Zeit einer Methode von Pighini[14]), welche auch Neuberg[15]) empfiehlt. Eine 2%ige Lösung von Hefenucleinsäure (Böhringer) dreht wie eine 3%ige Dextroselösung. Bei Gegenwart von Nuclease kann man eine ununterbrochene Abnahme der Drehung beobachten. Besonders stark soll menschliches Blutserum wirken. Amberg und Jones

---

[1]) Salkowski, Zeitschr. f. ph. Ch. **13**. 506. F. Kutscher, ebenda **32**. 59. (1900) **34**. 114. (1901). Hahn u. Geret, Z. f. Biol. **34**. 117.
[2]) Zeitschr. f. ph. Ch. **39**. 31.
[3]) A. Raki, Zeitschr. f. ph. Ch. **38**. 84. (1903).
[4]) Fr. Sachs, ebenda **46**. 337. (1905).
[5]) A. Schittenhelm u. J. Schmid, Zeitschr. f. ex. Path. u. Therap. **4**. 424. (1907).
[6]) H. Gideon Wells, Journ. biol. Ch. **7**. 171. (1910).
[7]) V. Scaffidi, Bioch. Zeitschr. **25**. 196. (1910).
[8]) P. A. Levene u. F. Medigreceanu, Journ. biol. Ch. **9**. 65. (1911).
[9]) T. Wakabayashi u. J. Wohlgemuth, Intern. Beitr. z. Path. u. Th. der Ernährungsstörungen. **2**. 519.
[10]) A. Juschtschenko, Bioch. Zeitschr. **31**. 377. (1911).
[11]) S. Iwanoff, Zeitschr. f. ph. Ch. **39**. 31. (1903).
[12]) H. Plenge, ebenda **39**. 190. (1903). — A. Schittenhelm u. F. Schrötter, ebenda **39**. 203. (1903); **40**. 62. (1903); **45**. 284. (1904).
[13]) K. Shiga, Zeitschr. f. ph. Ch. **42**. 502. (1904).
[14]) Ebenda **70**. 85. (1910).
[15]) Bioch. Zeitschr. **30**. 505. (1911).

Digitized by Google

machen demgegenüber darauf aufmerksam, dass die Drehung der Nucleinsäurelösung bei Temperaturerhöhung stark sinkt, schon Schwankungen der Zimmertemperatur bedingen grosse Abnahmen. Amberg und Jones konnten bei Digestion von Nucleinsäure mit Blutserum weder das Auftreten von Phosphorsäure, noch das von Purinbasen beobachten, so dass, wenn durch die Abnahme der Rechtsdrehung überhaupt eine Zersetzung der Nucleinsäure angezeigt wird, diese Zersetzung ganz anderer Natur sein müsste, wie die bisher durch Nucleasen beobachtete [1]).

Die weitere Analyse der Vorgänge bei der fermentativen Nucleinsäurespaltung hat aber ergeben, dass zwei Nucleasen vorhanden sind. Eine, welche die Nucleinsäuren in Nucleoside und Phosphorsäure zerlegt (Phosphornuclease) und eine zweite, welche primär die (Amino-) Purine in Freiheit setzt (Purinnuclease) [2]). Die gebildeten Nucleoside werden durch zwei voneinander verschiedene Nucleosiddesamidasen (Guanosin- und Adenosindesamidase) in Xanthosin und Inosin übergeführt, welche ihrerseits schliesslich durch zwei Hydrolasen (Xanthosinhydrolase und Inosinhydrolase) zu Xanthin bzw. Hypoxanthin abgebaut werden. Die Nucleosiddesamidasen und Nucleosidhydrolasen sind zum Unterschied von den Nucleasen nur auf einzelne Organe beschränkt und kommen ebenso wie die Purindesamidasen durchaus nicht immer zusammen vor. (Über die Verteilung aller dieser Fermente auf die einzelnen Organe siehe die Tabelle auf S. 927.) — Das Vorhandensein dieser Fermente wurde daraus erschlossen, dass man verschiedene Spaltungsprodukte erhält, je nachdem man die Nucleinsäuren und Organe entweder als solche oder nach vorgängiger kurzer Autolyse bzw. Fermentation mit Säuren kocht. Bei der primären Säurehydrolyse entstehen fast ausschliesslich die im Nucleinsäuremolekül vorgebildeten Aminopurine. Bei der Autolyse und der Nucleinsäurefermentation erhält man dagegen Oxypurine. Säurehydrolyse des primären Autolysats (mit oder ohne vorgängigen Zusatz von Nucleinsäuren) liefert nach Beendigung der Phosphorsäureabspaltung neue Purinmengen und zwar Oxy- und Aminopurine. Diese müssen also in einer durch Säuren spaltbaren, phosphorsäurefreien Verbindung vorhanden gewesen sein: als Amino- und Oxynucleoside, von denen die letzteren, da die Nucleinsäuren nur Aminopurine enthalten, durch Desaminierung aus den ersteren entstanden sein müssen. Der Befund, dass auch solche Organe bei der Autolyse Hypoxanthin bilden, welche zugesetztes Adenin nicht zu Hypoxanthin zu desaminieren vermögen, wird so verständlich.

[1]) Journ. biol. Ch. 10. 81. (1911).

[2]) W. Jones, Journ. biol. Ch. 9. 169. (1911). S. Amberg u. W. Jones, Zeitschr. f. ph. Ch. 73. 407. (1911).

Digitized by Google

Ausserdem beweist dieser Befund das Vorhandensein einer Nucleosid-desamidase[1]).

Im Magen werden die Nucleoproteide höchstens bis zur Nucleinstufe verdaut. Präformiert eingeführte Nucleinsäuren werden weder verändert noch resorbiert[2]). Im Darm werden die Nucleoproteide unter Freiwerden der Nucleinsäuren zerlegt und zwar durch das Trypsin. Die in Freiheit gesetzten Nucleinsäuren werden im Darm nun gespalten. An dieser Spaltung ist das Trypsin nicht, das Erepsin vielleicht beteiligt[3]). Ein kleiner Teil der Nucleinsäuren wird im Darm unter Auftreten freier Purine zerlegt, ein grösserer unter Bildung dialysabler Produkte, welche Purinbasen gebunden enthalten[4]) (Nucleoside?). Die Resorption geht im unteren Jejunum und Ileum vor sich[4]).

Für den weiteren Stoffwechsel gehen aus diesen Spaltungen der Nucleinsäuren, sowohl der Nahrungsnucleinsäuren als der in den Organen bei deren Tätigkeit und Abnützung entstehenden, Oxypurine und Aminopurine hervor und zwar allem Anscheine nach weit mehr Oxy- als Aminopurine.

Die im vorstehenden kurz zusammengefassten neueren Befunde über die Art und Weise wie die Nucleinsäuren im Körper zerfallen, sind von grösster Wichtigkeit für die Beurteilung zweier bisher schwer verständlicher Tatsachen: 1. dass der Mensch kein Adenin im Harne in irgend erheblicher Menge ausscheidet, wiewohl er es mit den Nucleoproteiden der Nahrung aufnimmt und in seinen Organen selbst enthält, aber in seinen Organen so gut wie kein adenindesaminierendes Ferment nachgewiesen werden kann; 2. dass das Schicksal der als solche eingeführten Aminopurine mindestens in quantitativer Hinsicht ganz anders ist als das der im Nucleinsäuremolekül in den Organismus eingeführten. (Adenin hat sich übrigens bei subkutaner Einführung am Tiere als schweres Gift erwiesen.)

A. Die Nucleinsäuren im engeren Sinne.

I. Die tierischen Nucleinsäuren.

Die Nucleinsäuren der tierischen Organe sind alle nach dem Typus der Nucleinsäure der Thymus gebaut, höchstwahrscheinlich

[1]) W. Jones, l. c. S. Amberg and W. Jones l. c.
[2]) E. S. London u. A. Schittenhelm, Zeitschr. f ph. Ch. 70. 10. (1910).
[3]) E. Abderhalden u. A. Schittenhelm, Zeitschr. f. ph. Ch. 47. 452. (1906). Steudel, ebenda 55. 408. (1908). M. Nakayama, ebenda 41. 348. (1904). A. Schittenhelm, Zentralbl. Phys. u. Path. d. Stoffw. 1910. 49.
[4]) Schittenhelm, Zeitschr. f. phys. Ch. 72. 459. 1911.

Digitized by Google

mit ihr identisch. Über den Bau der Harnnucleinsäure ist nichts bekannt.

a) Die Thymonucleinsäure.

Die Analysen ergaben: $C_{43} H_{61} O_{34} N_{15} P_4 + H_2O$ [1]).

C 37,18 %, H 4,14 %, N 15,17 %, P 8,94 % (H. Steudel)[2])

C 36,65 %, H 4,67 %, N 15,17 %, P 9,37 % (O. Schmiedeberg)[3]).

1. Sie enthält je ein Molekül Adenin, Guanin, Thymin und Cytosin und je 4 Moleküle Phosphorsäure und Hexose.

2. Sie ist eine weisse, amorphe, leicht zersetzliche Substanz, leicht löslich in den fixen Alkalien, Ammoniak, den Alkali-Carbonaten und Acetaten, schwer mit saurer Reaktion löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol und Äther.

3. Sie ist eine vierbasische Säure, vermag 4 H-Atome durch Metall zu ersetzen. — Die Alkalisalze sind leicht wasserlöslich und so beständig, dass sich ihre Lösungen unzersetzt kochen lassen[4]). Aus den Lösungen werden sie durch Alkohol nur bei Gegenwart von Na-Acetat gefällt. Die Lösungen geben nur mit Mineralsäuren, nicht mit Essigsäure einen Niederschlag von freier Nucleinsäure. Jedoch fällt nach Mörner (l. c.) auch Eisessig in grossem Überschusse. — Eine wichtige Eigenschaft des nucleinsauren Na, namentlich des aus Thymus dargestellten, ist die Fähigkeit, in mehr als 4 % iger Lösung in der Kälte zu einer steifen Gallerte zu erstarren. Doch tun dies nicht alle Präparate von nucleinsaurem Na. Die Nucleinsäure aus Pankreas liefert nach H. Steudel[5]) kein gelatinierendes Na-Salz. Nach Neumann[6]) sollen zwei Nucleinsäuren bestehen, a- und b-Säure, von denen nur das Salz der a-Säure gelatiniert und die b-Säure aus der a-Säure bei der Darstellung durch längeres Kochen entsteht. Nach O. Schmiedeberg[7]), welcher das gelegentliche Gelatinieren von Lösungen von nucleinsaurem Kupfer beobachtete, handelt es sich nicht um zwei verschiedene Säuren, sondern um Säure und Säureanhydrid. Nach W. Jones[8]) dagegen um Salze derselben Säure mit verschiedenem Basengehalt. — Die Erdalkalisalze sind schwer, die Schwermetallsalze in Wasser unlöslich. Die Salze lassen sich bei 90—95° ohne Zersetzung trocknen, vertragen aber höhere Temperaturen nicht.

[1]) Abderhaldens Handbuch d. bioch. Arbeitsmethoden II. 575.
[2]) H. Steudel; Zeitschr. f. phys. Chem. 77. 437 (1912).
[3]) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. 57. 328. (1907).
[4]) A. Kossel und A. Neumann, B. B. 27. 2215. 1894.
[5]) Zeitschr. f. physiol. Ch. 53. 539.
[6]) Archiv f. Physiol. Suppl. 1899. 552.
[7]) l. c.
[8]) Journ. of biol. Chemistry 5. 14. 1908/9.

Digitized by Google

4. Die Lösungen der Salze drehen die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts [1]). Die spezifische Drehung wechselt stark mit der Verdünnung und der Acidität (W. Jones) [2]).

5. Die Thymonucleinsäure reduziert Fehlings-Lösung auch nach dem Kochen mit Mineralsäuren nicht; wohl aber erhält man reduzierende Lösungen durch Behandlung mit Salpetersäure in der Kälte [3]). Wird Nucleinsäure mit rauchender Salzsäure zum Sieden erhitzt, Phloruglucin zugesetzt und abgekühlt, so zeigt die Flüssigkeit eine rote Farbe [4]), die aber nicht in Amylalkohol übergeht (Unterschied von der echten Pentosenreaktion) [5]). Mit Orcin erhält man keine Reaktion [6]). — Die Biuretreaktion ist negativ, ebenso Millons Reaktion auf Eiweiss und die Diazoreaktion 7). (Zur Ausführung der Biuretreaktion in sehr empfindlicher Form siehe O. Schmiedeberg l. c. S. 334.)

6. Sie gibt mit Eiweiss bei Gegenwart von Essigsäure eine Fällung; Gerbsäure, Pikrinsäure und Phosphorwolframsäure fällen nicht; wohl aber Mercurinitrat (Mörner l. c.) und Bleizuckerlösung.

7. Sie ist imstande, Purinstoffe (Basen und Harnsäure) in Lösung zu halten und deren Fällung zu verhindern [7]).

8. Sie fällt Eiweiss sowie Leim aus saurer Lösung, Albumosen weniger vollständig, Pepton (Kühne) gar nicht. Nach Kutscher [8]) gibt die neutrale Lösung eines Nucleinsäuresalzes mit wässeriger Albumoselösung einen Niederschlag von Nuclein. Mit dem Eiweiss verbinden sich die Nucleinsäuren in mehreren Verhältnissen.

Versetzt man nach Mörner eine Nucleinsäurelösung mit viel Eiweiss (Blutserum oder Eieralbumin), etwa dem Fünffachen der Nucleinsäure, so gibt Essigsäure einen Niederschlag, der sich nach dem Waschen und abermaliger Fällung aus ammoniakalischer Lösung wie Nucleoproteid schon bei einem Zusatz von 0,4% Essigsäure vollständig und auch sehr leicht in Salzsäure löst. Ein mit mehr Nucleinsäure bereiteter Niederschlag aus Blutserum löst sich dagegen selbst in 5%iger Essigsäure nicht und nicht in Salzsäure bei einem Gehalt von 0,4%, verhält sich also wie Nuclein. Ein aus Eieralbumin mit überschüssiger Nucleinsäure bereiteter Niederschlag löste sich schon in Salzsäure von 0,2%.

Aus salzarmem Harn wird nach Mörner Eiweiss durch Nucleinsäure ebenso gefällt, wie aus wässeriger Lösung.

Für diesen Versuch wurde der Harn von der immer in ihm enthaltenen eiweissfällenden Substanz befreit; er wurde dialysiert, bis er nur noch wenig Chloride enthielt, bis zu 0,2% mit Essigsäure versetzt, mit Chloroform kräftig geschüttelt und das Filtrat mit überschüssigem Serumalbumin ausgefällt. Die

[1]) H. Steudel, Zeitschr. f. physiol. Ch. **55**. 410. 1908.
[2]) A. Neumann, Archiv f. Physiol. 1898. 377.
[3]) H. Steudel, Zeitschr. f. physiol. Ch. **56**. 215. 1908.
[4]) J. Bang, Hofmeisters Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**. 341.
[5]) R. Burian, B. B. **37**. 708. 1904 und Zeitschr. f. physiol. Ch. **42**. 297. 1904.
[6]) A. Kossel, Archiv f. Anat. u. Physiol. 1893. 164.
[7]) M. Goto, Zeitschr. f. physiol. Ch. **30**. 473. 1900.
[8]) Fr. Kutscher, Zeitschr. f. physiol. Ch. **23**. 118. 1897.

Digitized by Google

abermals filtrierte Flüssigkeit gab mit Nucleinsäure jetzt einen Niederschlag, welcher nach dem Trocknen 1,06% Phosphor (und 1,64% Schwefel) enthielt.

9. Zersetzungen. Durch Mineralsäuren in der Siedehitze, am besten durch Schwefelsäure von ca. 5% wird die Nucleinsäure in wenigen Stunden vollständig gespalten. Aus der Zersetzungsflüssigkeit sind dargestellt worden: die Purinstoffe: Guanin [1]), Adenin [2]), Xanthin [3]), Hypoxanthin [4]); die Pyrimidinbasen: Cytosin [5]), Uracil [6]), Thymin [7]), ferner Ameisensäure und Lävulinsäure [8]), schliesslich Ammoniak und Phosphorsäure; bei der Destillation mit Salzsäure entstehen ferner kleine Mengen von Furfurol [9]). Nach Entfernung der Phosphor- und Schwefelsäure lässt sich mit Äther Lävulinsäure und ein Teil des Thymins extrahieren. Aus der zurückbleibenden Flüssigkeit fällt Phosphorwolframsäure die Basen (Purine und Cytosin), das Filtrat enthält Uracil und Thymin, welche durch fraktionierte Krystallisation getrennt werden können. Aus der durch Barythydrat zerlegten Phosphorwolframsäurefällung werden die Purinstoffe durch Fällung mit 20%igem Silbernitrat abgeschieden, im Filtrat nach weiterem Silbernitratzusatz das Cytosin durch Barythydrat als Silberverbindung gefällt und schliesslich über das Platindoppelsalz oder das Pikrat gereinigt. Aller Phosphor wird stets als Phosphorsäure erhalten.

Starke Salpetersäure zerlegt Nucleinsäure schon in der Kälte (die doppelte Menge einer Säure von 1,2 sp. Gew.) unter Entwickelung von Stickstoffoxyden. Bei dieser Zersetzung wird in ein bis mehreren Tagen ein krystallinisches Sediment von Guanin und Adenin abgeschieden. Ausser diesen entsteht hierbei kein anderer Purinstoff. Im Filtrat, welches reduziert und rechts dreht, krystallisiert nach Abdampfen der Salpetersäure und Fällung der Phosphorsäure mit Baryt, Thymin und Uracil, die Mutterlauge gibt mit Alkohol eine Fällung von epizuckersaurem Baryum. Ausserdem wird bei dieser Zerlegung Oxalsäure erhalten [10]). Ebenso soll nach H. Steudel (l. c.) starke Salzsäure wirken. — Daraus geht hervor, dass die primären Produkte der Säurehydrolyse bei Anwendung höherer Temperaturen einer sekundären Veränderung unterliegen, welche im wesentlichen in einer Abspaltung von

[1]) A. Kossel, Zeitschr. f. physiol. Ch. 7. 15. 1882.
[2]) A. Kossel, B. B. 18. N. T. 928. 1885.
[3]) A. Kossel, Zeitschr. f. physiol. Ch. 4. 1880.
[4]) A. Kossel, Ebenda 3. 291. 1879.
[5]) A. Kossel und H. Steudel, Ebenda 37. 177. 1902.
[6]) A. Askoli, Ebenda 31. 561. 1900.
[7]) A. Kossel und A. Neumann, B. B. 27. 2215. 1894.
[8]) A. Kossel, Archiv f. Anat. u. Physiol. 1891. 181.
[9]) v. Fürth und Jerusalem, Hofmeisters Beiträge 10. 179. — H. Steudel, Zeitschr. f. physiol. Ch. 56. 212. 19C8.
[10]) H. Steudel, Zeitschr. f. physiol. Ch. 48. 426. 1906.

Digitized by Google

Ammoniak besteht, wobei Guanin in Xanthin, Adenin in Hypoxanthin übergeht. Auch das Uracil kann man sich auf diese Weise (durch Desamidierung) aus Cytosin hervorgegangen denken.

Durch vorsichtige Anwendung hydrolytischer Prozeduren erhält man Produkte einer teilweisen Zersetzung: Erhitzt man eine Lösung freier Nucleinsäure auf dem Wasserbade gerade so lange, bis mit Mineralsäuren keine Fällung unveränderter Nucleinsäure erfolgt, aber nicht so lange, dass mit Barythydrat eine Fällung von freier Phosphorsäure entsteht, so scheidet sich aus der durch Bariumhydroxyd alkalisch gemachten Flüssigkeit allmählich das gesamte Guanin der in Arbeit genommenen Nucleinsäuremenge aus und Alkohol fällt aus dem Filtrate vom Guanin das Bariumsalz einer Säure, der Thyminsäure[1]) oder des Nucleotin (Nucleotinphosphorsäure)[2]), welche nach den Analysen den purinfreien Rest der Nucleinsäure (aus Kohlehydrat, Phosphorsäure und Pyrimidinstoffen bestehend) darstellt, während das gesamte Adenin und eine kleine Menge Cytosin im Alkohol gelöst bleiben. Nach H. Steudel und P. Brigl erhält man die Thyminsäure leicht durch Zerlegen der Nucleinsäure mit Salpetersäure in der Kälte im Filtrat von den Purinbasen über eine Bleifällung als alkoholunlösliches Barytsalz[3]). Sie ist rechtsdrehend und reduziert Fehlings-Lösung kräftig. Die Analysen stimmen annähernd mit der Annahme einer Nucleinsäure, aus der die beiden Purinbasen unter Eintritt von zwei Wassermolekülen entfernt sind. Bei der Hydrolyse dieser Substanz erhält man keine Purinbasen, dagegen Thymin und Uracil in fast theoretischer Ausbeute[3]). — Hält man bei der Spaltung der Nucleinsäure auf dem Wasserbade die Temperatur unter dem Siedepunkte, so fällt Salzsäure-Alkohol ein noch höheres Produkt — die Nucleothyminsäure[4]), welche noch Purine im Molekül enthält. —

Durch Kochen von Thymonucleinsäure aus Milz mit n/10-Schwefelsäure erhielten P. A. Levene und I. A. Mandel[5]) nach Entfernung der Purine mittelst Silbersulfat, mit Barytwasser die Silberverbindung einer alkoholfällbaren Säure, welche ein unlösliches Barytsalz lieferte und die Zusammensetzung einer Thyminglycophosphorsäure hatte. Bei der vollständigen Hydrolyse lieferte sie Thymin und Lävulinsäure.

Die Thymonucleinsäure zerfällt unter dem Einflusse von Organfermenten unter Bildung von Nucleosiden (s. oben S. 1082 c)[6]). Durch

[1]) A. Kossel und A. Neumann, Zeitschr. f. physiol. Ch. 22. 74. 1896.
[2]) Alsberg, Archiv f. exper. Pathol. u. Pharm. 51. 239. 1904.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Ch. 70. 398. 1901.
[4]) A. Neumann, Archiv f. Anat. u. Physiol. Suppl. 1899. 552.
[5]) B. B. 41. 1905. 1908.
[6]) S. Amberg u. W. Jones, Journ. biol. Ch. 10. 81. (1911).

Digitized by Google

Blutserum wird thymonucleinsaures Natrium nicht zersetzt, die Drehung der Lösung wird durch Blutserum von Rind, Hund und Kaninchen nicht geändert[1]). Die Veränderungen, die sie im Magendarmkanal erleidet, sind oben erwähnt (S. 1082g).

b) Die Harnnucleinsäure.

Vorkommen. Im Harn findet sich nach K. A. H. Mörner[2]) Nucleinsäure in sehr kleiner Menge, in geringerer als die Chondroitinschwefelsäure, wie es scheint in grösserer Menge, als von dem vorhandenen Eiweiss gebunden werden kann. Bisweilen scheint sie zu fehlen.

Nachweis. Man hat zunächst die Nucleinsäure aus dem Harn abzuscheiden und diesem Zweck dient dasselbe Verfahren, durch welches die Chondroitinschwefelsäure aus dem Harn gewonnen wird (Seite 1261). Beide Säuren ewrden so nebeneinander als Eiweissverbindungen erhalten, und ihnen kann sich, sicher bei ikterischem Harn, auch taurocholsaures Eiweiss beigesellen. Der Nachweis gründet sich auf den Gehalt der Nucleinsäure an Phosphorsäure und an Xanthinbasen. Der Nachweis von Phohphorsäure allein beweist nichts.

Um die Phosphorsäure aufzufinden, muss der Niederschlag mit Soda und Salpeter geschmolzen und die Lösung mit molybdänsaurem Ammon in salpetersaurer Lösung geprüft werden. Dieser bloss qualitative Nachweis hat aber nur dann Wert, wenn das untersuchte Präparat beim Verbrennen für sich keine oder nur Spuren Asche hinterlässt; denn die in der Schmelze gefundene Phosphorsäure kann auch den das Präparat begleitenden anorganischen Salzen entstammen. Einem hieraus entspringenden Irrtum entgeht man durch gleichzeitige quantitative Bestimmung der Asche und der Phosphorsäure; ist die Menge der Phosphorsäure grösser, als in Kalkphosphat von dem Gewicht der Asche enthalten sein kann, so ist man zu der Annahme berechtigt, dass wenigstens der Überschuss als Nucleinsäure vorhanden war, um so mehr als in die Asche ja auch die Schwefelsäure der Chondroitinschwefelsäure und andere anorganische Stoffen eingehen. — Der Niederschlag, welcher bei der Pepsinverdauung des unmittelbar aus dem Harn gewonnenen Präparates entsteht, muss reicher an Phosphorsäure sein, als das ursprüngliche Präparat. Kann man mit beiden Niederschlägen Phosphorsäurebestimmungen ausführen und entspricht der Befund der soeben gemachten Voraussetzung, so ist eine Irrung durch den Aschegehalt des Präparates ausgeschlossen. Eine Verunreinigung der Harnniederschläge durch das gleichfalls phosphorhaltige Lecithin ist nicht ernstlich zu fürchten.

Da der Niederschlag zum bei weitem grösseren Teil aus chondroitinschwefelsaurem Eiweiss besteht, so ist in den Niederschlägen aus Harn nur wenig Phosphorsäure zu erwarten, keineswegs so viel, als das reine Nucleoproteid oder Nuclein enthält. Mörner fand in dem direkt aus Harn erhaltenen Niederschlag 0,04—0,2%, in dem Verdauungsniederschlag 0,4—1% Phosphor.

Der Nachweis von Xanthinbasen in den Niederschlägen bestätigt nicht bloss den aus der Gegenwart der Phosphorsäure gezogenen Schluss in erwünschter Weise, sondern er allein genügt für den Nachweis der Nucleinsäure. Mörner verfuhr dabei in folgender Weise. Es wurde der mittels Serumalbumin aus 8,5 Liter normalem Harn und der direkt aus 1 und 3,6 Liter eiweisshaltigem Harn

---

[1]) Dieselben, Zeitschr. f. phys. Ch. 73. 407. (1911).
[2]) K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv 6. 372. 1895.

Digitized by Google

(nach Scarlatina) erhaltene Niederschlag mit 0,1 normaler Schwefelsäure erhitzt die neutralisierte Lösung mit Bleiessig gefällt, das überschüssige Blei mit Schwefelwasserstoff entfernt und das Filtrat eingedampft. Dieses gab mit ammoniakalischer Silberlösung einen Niederschlag, der nach dem Waschen in einigen Tropfen Salpetersäure von 1,1 Dichte gelöst wurde. Beim Erkalten schieden sich Nadeln und Gruppen von Nadeln aus.

Das Auftreten eines Niederschlags bei der Verdauung des Niederschlages aus dem Harn allein beweist nichts für die Anwesenheit von Nucleoproteid, denn ein solcher entsteht auch bei der Verdauung von Eiweiss in Gegenwart von Chondroitinschwefelsäure, von Taurocholsäure und Metaphosphorsäure; die Chondroitinschwefelsäure ist aber immer in dem Eiweissniederschlag aus Harn enthalten, während die Nucleinsäure fehlen kann.

Reine Nucleinsäure wird erkannt an der absoluten Eiweissfreiheit, an der Fällbarkeit durch Alkohol nur nach Zusatz von Na-Acetatlösung, an dem Gehalt dieses Niederschlages an organischem Phosphor und an den durch Hydrolyse bezw. Oxydation desselben freiwerdenden Purinstoffen. Für den letzteren Nachweis gibt H. Steudel eine empfindliche, auch mit kleinsten Mengen unter dem Mikroskop ausführbare Probe an. Die fragliche Substanz wird mit Salpetersäure von 1,2 sp. G. zusammengebracht, bei Anwesenheit von Nucleinsäure entsteht in kürzester Zeit eine krystallinische Abscheidung der Nitrate der Purinbasen [1]).

II. Die pflanzlichen Nucleinsäuren.

Die bisher näher untersuchten Nucleinsäuren des Pflanzenreichs: die Hefenucleinsäure und die Nucleinsäure aus Weizenembryonen (Triticonucleinsäure) scheinen identisch zu sein [1]).

Die Hefenucleinsäure hat die empirische Zusammensetzung:

$$C_{29}\ H_{42}\ N_{13}\ O_{23}\ P_3$$ [2]).

Sie besteht aus je einem Molekül Adenin, Guanin und Cytosin und je 3 Molekülen Pentose und Phosphorsäure [3]).

Zu ihrer Darstellung aus Hefe hat Neumann (l. c.) ein Verfahren ausgearbeitet, bessere Resultate scheint das Verfahren von Altmann zu liefern [4]).

Bei der Säurehydrolyse wurden erhalten: Guanin, Adenin, Xanthin, Hypoxanthin, Cytosin, Uracil (Pentose) und Phosphorsäure [2]). Auch hier sind die Desaminoderivate Xanthin, Hypoxanthin und Uracil sekundär entstanden. Zur Darstellung des Cytosins eignet sich am besten Schwefelsäurespaltung, zur Darstellung der Aminopurine Salpetersäure.

---

[1]) H. Steudel, Zeitschr. f. physiol. Ch. 48. 1906.
[2]) P. A. Levene u. B. La Forga, B. B. 43. 3164. (1910).
[3]) Katharina Kowalewsky, Zeitschr. f. ph. Ch. 69. 240. (1910). Osborn u. Harri, Zeitschr. f. ph. Ch. 36. 85. (1902). A. Kossel, Arch. f. Anat. u. Ph. 1893. 159. P. A. Levene u. W. A. Jacobs, B. B. 42. 2703. (1909).
[4]) Arch. f. Anat. u. Ph. 1889. 527. Suppl.

Digitized by Google

Nach P. A. Levene, der die Formel: $C_{38}H_{50}N_{15}O_{29}P_4$ angibt, enthält sie auch Uracil im Molekül vorgebildet[1]). Die Pentose ist d-Ribose Levene, l. c.).

Mit Kalilauge und Kaliumacetat oder mit Ammoniak im Autoklaven auf 160—190° erhitzt entsteht unter Abspaltung der gesamten Phosphorsäure: Adenosin, Guanosin und Cytidin. Die gleichen Produkte wurden bei der partiellen Hydrolyse der Triticonucleinsäure erhalten[2]).

Die Hefenucleinsäure dreht die Ebene des polarisierten Lichts nach rechts. Das klar lösliche Natriumsalz von Böhringer dreht in einer 2%igen Lösung wie eine 2,9%ige Dextroselösung[3])[4]). Bei der Digestion mit Organen, aber auch (Unterschied zur Thymonucleinsäure) mit Blutserum nimmt die Drehung rasch ab. Ob das Verschwinden der Rechtsdrehung eine Zersetzung anzeigt, ist ungewiss (s. o. S. 1082 f).

B. Nucleotide.

I. Guanylsäure.

Die Guanylsäure wurde von I. Bang[5]) entdeckt, welcher ihr die empirische Zusammensetzung: $C_{44}H_{66}N_{20}O_{34}P_4$ zuschreibt. Der einfachste Ausdruck der analytischen Resultate ist: $C_{10}H_{14}N_5O_8P$ (H. Steudel und P. Brigl). Die von Bang beschriebene b-Guanylsäure soll nicht existieren, sondern saures guanylsaures Kalium sein[6]). Die Guanylsäure besteht daher wahrscheinlich nur aus je einem Molekül Guanin, Pentose und Phosphorsäure. Die Pentose ist nach C. Neuberg l-Xylose[7]), nach P. A. Levene und W. A. Jacobs d-Ribose[2]).

Bang stellte die Guanylsäure durch Kochen des rein dargestellten Nucleoproteids des Pankreas mit Kalilauge und Fällen des Hydrolysats mit Schwefelsäure dar[5]). Nach P. A. Levene und W. A. Jacobs kann man zur Darstellung auch die ganze Drüse verwenden. Diese wird nach dem Koagulieren durch Kochen mit Kalilauge und Kaliumacetat über Nacht stehen gelassen. Hierauf wird das Eiweiss mit Pikrinsäure und Essigsäure entfernt und das eiweissfreie Filtrat, welches die Thymonucleinsäure und die Guanylsäure enthält, mit 25%iger Bleizuckerlösung gefällt. Im Filtrat befindet sich die Guanylsäure[8]).

1) P. A. Levene u. W. A. Jacobs, B. B. 43. 3150. (1910).
2) P. A. Levene u. W. A. Jacobs, B. B. 42. 2474. (1909) u. 43. 3150. (1910).
3) G. Pighini, Zeitschr. f. ph. Ch. 70. 85. (1910).
4) C. Neuberg, Bioch. Zeitschr. 30. 505. (1911).
5) Zeitschr. f. ph. Ch. 26. 133. 1898.
6) Ebenda, 68. 40. (1910).
7) B. B. 35. 1467. (1902); Ebenda, 42. 2703. (1909).
8) Bioch. Zeitschr. 28. 126. (1910).

Digitized by Google

Die Guanylsäure ist in Wasser schwer, in Essigsäure unlöslich, dagegen löslich in Salzsäure. Die Alkalisalze sind leicht in Wasser löslich. Sie wird von Gerbsäure, Pikrinsäure (?), Phosphorwolframsäure und Schwermetallsalzen gefällt. Sie hindert die Fällung der Purinbasen mit ammoniakalischer Silberlösung.

Die Millonsche und die Biuret-Reaktion fallen mit ihr negativ aus. Sie ist rechtsdrehend und reduziert Fehlings Lösung nach dem Kochen mit Salzsäure und Entfernen des Guanins.

Durch Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure wird sie in Guanin, Pentose und Phosphorsäure gespalten. Erhitzen einer Lösung des Natriumsalzes im Rohre 4 Stunden auf 135° liefert beim Erkalten das tyrosinähnlich krystallisierende Guanosin [1]).

Die meisten Organe, welche Nucleinsäure zerlegen, spalten auch die Guanylsäure [2]). Die Drehung der Lösung ändert sich nicht, wenn man Guanylsäure mit Schweinepankreas digeriert, wiewohl die Abspaltung von Phosphorsäure die vor sich gegangene Zersetzung anzeigt [3]).

II. Inosinsäure.

$C_{10}H_{13}N_4O_8P$, wurde von Liebig im Fleischextrakt aufgefunden [4]). Besteht aus je einem Molekül Hypoxanthin, Pentose und Phosphorsäure.

Man erhält sie nach F. Haiser [5]) aus dem mit Alkohol ausgezogenen Extrakt nach Entfernung der reichlich vorhandenen Phosphorsäure über das unlösliche Silbersalz als schön krystallisierendes Bariumsalz, wenn man den durch Schwefelwasserstoff zerlegten Silberniederschlag mit Bariumcarbonat digeriert und das Filtrat langsam bei 80° einengt oder in gleicher Weise über das Bleisalz [6]). Nach letzterer Methode verfuhr schon früher Fr. Bauer [7]).

Die Inosinsäure ist eine amorphe, leicht zersetzliche Substanz, ihre Salze sind beständig und krystallisieren zum Teil.

$$Ba - C_{10}H_{11}N_4O_8P + 7{,}5\ H_2O.$$
$$Ca - C_{10}H_{11}N_4O_8P + H_2O.$$

Das Silbersalz bildet einen gelatinösen Niederschlag, welcher in Salpetersäure und Ammoniak löslich ist. Auch das Kupfersalz löst sich in Ammoniak.

1) B. B. 42. 2469. (1909).
2) P. A. Levene u. F. Medigreceanu, Journ. biol. Ch. 9. 65. (1911).
3) W. Jones, Journ. biol. Ch. 9. 169. (1911).
4) Liebig's Annalen 62. 317. 1897.
5) Monatshefte f. Ch. 26. 190.
6) Heiser u. Wenzel, Monatshefte f. Ch. 29. 157. 1909.
7) Hofmeisters Beitr. 10. 345. 1907.

Digitized by Google

Die Inosinsäure reduziert Fehlings Lösung nach dem Kochen mit Mineralsäure und Entfernen des entstandenen Hypoxanthins. Sie gibt eine starke Pentosenreaktion mit Orcin oder Phloroglucin.

Ihre spezifische Drehung ist $\alpha_D{}^{20} = -18{,}5^0$.

Bei der Hydrolyse zerfällt die Inosinsäure in je ein Molekül Hypoxanthin, Phosphorsäure und Pentose. Diese ist nach C. Neuberg und B. Brahm[1]) l-Xylose, nach P. A. Levene und W. A. Jacobs[2]) d-Ribose. Beim Erhitzen des inosinsauren Bariums im Rohre auf 135⁰ erhält man Inosin[3]).

Alle Organe des Hundes mit Ausnahme von Pankreas und Blut sind imstande Inosinsäure zu zerlegen[4]).

C. Nucleoside.

I. Guanosin und Xanthosin.

$C_{10}H_{13}N_5O_5 + 2\ H_2O$, tyrosinähnliche Krystalle. F. P. 237⁰ (unter Verkohlen)[5]). Es besteht aus je einem Molekül Guanin und d-Ribose.

In $n/_{10}$-Natronlauge gelöst $\alpha_D{}^{20} = -60{,}52^0$.

Das Guanosin findet sich vorgebildet im Pankreas[6]).

Die als Vernin bezeichnete, im Pflanzenreich verbreitete Verbindung ist identisch mit Guanosin[7]).

Levene und Jacobs haben das Guanosin durch Erhitzen des hefenucleinsauren Kaliums im Autoklaven auf 180—190⁰ erhalten. Beim Erkalten der Lösung scheidet sich das Guanosin aus und kann durch Umkrystallisieren gereinigt werden. In analoger Weise haben es die beiden Forscher aus Guanylsäure dargestellt[3])[5]).

Es entsteht ferner bei der Organautolyse und der Organfermentation von Thymusnucleinsäure und Guanylsäure (Rinder- und Schweinepankreas)[8]).

Das Guanosin fällt mit Phosphorwolframsäure, Silbernitrat, Bleiessig und Ammoniak und Pikrinsäure.

Mit Salzsäure gekocht und mit Phloroglucin versetzt, entsteht die für Pentosen charakteristische Rotfärbung.

---

1) Bioch. Zeitschr. **5**. 449. 1907.
2) B. B. **42**. 8. 1189 u. 2703. (1909).
3) P. A. Levene u. W. A. Jacobs, B. B. **42**. 335. u. 1198. (1909).
4) P. A. Levene u. F. Medigreceanu, Journ. biol. Ch. **9**. 65. (1911).
5) P. A. Levene u. W. A. Jacobs, B. B. **42**. 2469. (1909) u. 2474 (1909).
6) Dieselben, Bioch. Zeitschr. **28**. 126. (1910).
7) E. Schulz u. N. Castoro, Zeitschr. f. ph. Ch. **41**. 455. (1904). E. Schulz u. G. Trier, ebenda **70**. 143. (1910).
8) W. Jones, Journ. biol. Ch. **9**. 169. (1911). S. Amberg u. W. Jones, Zeitschr. f. ph. Ch. **73**. 407. (1911).

Digitized by Google

Durch Natriumnitrit und Essigsäure wird Guanosin desamidiert, es entsteht Xanthosin:

$$C_{10}H_{12}O_6N_4 + 2\,H_2O,\ \alpha_D^{20} = -\ 51{,}23^0$$ [5]).

Dieselbe Veränderung erleidet es bei der Digestion mit gewissen Organen (z. B. Schweineleber)[6]).

Mit $n/_{10}$-Schwefelsäure auf dem Rückflusskühler gekocht zerfällt das Guanosin in d-Ribose und Guanin[1]).

II. Adenosin.

$C_{10}H_{13}N_5O_4 + 1{,}5\ H_2O$. F. P. 229⁰. Tyrosinähnliche Krystalle. $\alpha_D^{20} = -67{,}30^0$. Es besteht aus je einem Molekül Adenin und d-Ribose. (P. A. Levene und W. A. Jacobs, s. bei Guanosin.)

Das Pikrat schmilzt bei 185⁰.

Es wurde wie das Guanosin von Levene und Jacobs durch Hydrolyse von hefenucleinsaurem Natrium im Rohre aus dem Filtrat vom Guanosin erhalten und über das Pikrat gereinigt.

Es hat ähnliche Reaktionen wie das Guanosin.

Es entsteht wie das Guanosin bei der Autolyse der Organe und der Organfermentation der Thymusnucleinsäure (W. Jones, S. Amberg und W. Jones, s. b. Guanosin)[2]).

Durch Natriumnitrit und Essigsäure wird es desaminiert und geht in Inosin über[1]).

Dieselbe Umwandlung erleidet es durch Digestion mit gewissen Organen (W. Jones, S. Amberg und W. Jones, s. bei Guanosin)[2]).

Durch Kochen mit Schwefelsäure wird es zu Adenin und d-Ribose gespalten (P. A. Levene und W. A. Jacobs, s. b. Guanosin)[3])[4])[5]).

III. Inosin und Carnin.

1. Inosin.

$C_{10}H_{12}N_4O_5$ krystallisiert lufttrocken mit $2H_2O$ und schmilzt dann bei 89—90⁰. Im Exsikkator verliert es alles Wasser und verkohlt dann bei 215⁰. $\alpha_D^{20} = -49{,}2^0$. Es ist verhältnismässig leicht in Wasser löslich.

Es besteht aus je einem Molekül Hypoxanthin und d-Ribose[1]).

Es wurde von F. Haiser und F. Wenzel[6]) im Fleischextrakt entdeckt bzw. aus dem Carnin dargestellt.

---

1) P. A. Levene u. W. A. Jacobs, B. B. 43. 3150. (1910).
2) Jones, Amberg und Jones, l. c.
3) Levene u. Jacobs, l. c. B. B. 42.
4) P. A. Levene u. W. A. Jacobs, B. B. 43. 3150. (1910).
5) P. A. Levene u. W. A. Jacobs, B. B. 42. 335. 1198. (1909).
6) Monatsh. f. Ch. 29. 157. (1909).

Digitized by Google

Es entsteht bei der partiellen Spaltung der Inosinsäure (s. d.), und durch Desaminierung des Adenosins durch Nitrit und Organfermente (s. Adenosin).

Säurehydrolyse spaltet das Inosin in d-Ribose und Hypoxanthin [1]).

2. Carnin.

Es kommt nach Pouchet konstant in kleinen Mengen im normalen Harn vor, in grösseren Mengen bei Fieber und bei Affektionen des Nervensystems [1]). Eine dem Carnin ähnliche Basis traf Salomon [2]) in leukämischem Harn an (aus 35 Ltr. 0,1 g). In 15 Ltr. Hundeharn fand Albanese [3]) eine Spur Carnin.

Eigenschaften.

1. Lufttrocken $C_7H_8N_4O_3$, H_2O. Bildet gewissen Formen des kohlensauren Kalkes ähnliche Drusen und Knollen mikroskopischer, unregelmässig begrenzter derber Krystalle; grosse Krystalle lassen sich nicht erhalten. Nach dem Trocknen kreideweiss.

2. Löst sich sehr schwer in kaltem Wasser, leicht in heissem und fällt beim Erkalten leicht wieder aus. Es löst sich schwer in Ammoniak, leicht in Alkalihydrat (Krukenberg und Wagner), leicht in Mineralsäuren (Huppert); seine Lösung reagiert völlig neutral. Alkohol sowie Äther lösen es nicht.

3. Beginnt sich bei 230° zu bräunen und liefert einige Grad darüber ein unbedeutendes Sublimat. Auf dem Platinblech verbrennt es mit bläulicher Flamme unter Verbreitung eines eigentümlichen Geruchs.

4. Wird durch Bleiessig gefällt, jedoch nicht in Gegenwart von Bleizucker (Weidel); der Niederschlag löst sich in der Wärme und tritt beim Erkalten wieder auf.

5. Salzsaures Carnin $C_7H_8N_4O_3$, HCl. Eine Lösung von Carnin in warmer starker Salzsäure setzt beim Erkalten bald hübsche glasglänzende Nadeln in charakteristischen Rosetten ab. Die wässrige Lösung der Krystalle liefert beim Erkalten zumeist einen Schlamm, der sich erst bei längerem Stehen wieder in Nadeln verwandelt. — Das Chloroplatinat $C_7H_8N_4O_3$, HCl, $PtCl_4$ scheidet sich auf Zusatz von Platinchlorid zur Lösung des Chlorids allmählich als feines sandiges goldgelbes Pulver ab. — Jodwasserstoffsaures Carnin krystallisiert aus einer warmen Lösung von Carnin in concentrierter Jodwasserstoffsäure in Nadeln. — Pikrinsäure gibt keinen Niederschlag.

6. Mit Quecksilberchlorid und mit salpetersaurem Quecksilberoxyd gibt es einen weissen Niederschlag. — Salpetersaures Carnin-Silber $(C_7H_7AgN_4O_3)_2AgNO_3$ fällt auf Zusatz von salpetersaurem Silber zu einer Carninlösung als flockiger weisser, ziemlich lichtbeständiger Niederschlag, der sich weder in Salpetersäure noch in Ammoniak merklich auflöst.

7. Verwandelt sich beim Erwärmen mit gesättigtem Brom- oder Chlorwasser unter schwacher Gasentwicklung, ferner beim Erwärmen mit Salpetersäure unter ziemlich heftiger Reaktion in Sarkin. Die Zersetzung mit Brom verläuft vielleicht nach der Gleichung

$$C_7H_8N_4O_3 + Br_2 = C_5H_4N_4O, HBr + CH_3Br + CO_2.$$

[1]) H. Weidel, Ann. d. Ch. u. Pharm. 158. 353. 1871. — Krukenberg und H. Wagner, Verhandlungen der Würzburger physik. med. Gesellsch. 1883. — A. Gabriel Pouchet, Contributions à la connaissance des matières extractives de l'urine. Thèse. Paris 1880. Parent 28 u. 36.

[2]) Zeitschr. f. ph. Ch. 18. 211.

[3]) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. 35. 457.

Digitized by Google

Der Angabe von Weidel, dass mit Chlorwasser eingedampftes Carnin sich in einer Ammoniakatmosphäre rot färbt, wird von Krukenberg und Wagner widersprochen. Nach Hupperts Erfahrung tritt die Färbung jedoch dann ein, wenn nur wenig Chlorwasser zur Reaktion verwendet wird. — Beim Kochen mit starker Salzsäure färbt sich die Lösung immer stärker braun und schliesslich wird das Carnin unter Ausscheidung brauner Flocken völlig zersetzt. — Wird Carnin mit konzentrierter Jodwasserstoffsäure erhitzt, so bräunt sich die Lösung unter Ausscheidung von Jod und beim Erkalten krystallisiert jodwasserstoffsaures Carnin aus. — Mit Barytwasser lässt sich das Carnin stundenlang ohne Zersetzung kochen.

Nach F. Haiser und F. Wenzel ist das Carnin ein Gemenge von Inosin und Hypoxanthin [1]).

Bei der Fällung der Purinstoffe im Harn (s. d.) wird das Carnin ebenfalls gefällt und befindet sich nach der weiteren Fraktionierung in der Hypoxanthinfraktion (s. d.) und schliesslich in den Mutterlaugen, welche nach dem Auskrystallisieren der Xanthinbasen aus den ammoniakalischen Lösung übrig bleiben. Man erhält es aus diesen nach Weidel [2]) durch Fällen derselben mit Bleiessig, Auskochen des Niederschlages mit Wasser und Behandeln des Auszuges mit Schwefelwasserstoff. Schliesslich fällt man mit Silbernitrat, wäscht mit Ammoniak und zerlegt wieder mit Schwefelwasserstoff.

In derselben Weise wird das Carnin aus Fleischextrakt oder dem wässerigen Auszug von Pferdefleisch (Balke) dargestellt. Im Filtrat von der Barytfällung des Fleischextrakts wird das Carnin mit Bleiessig gefällt und dem Niederschlage durch siedendes Wasser das Carninblei entzogen. Balke [3]) fällt zuerst das Carnin mit den Purinen als Cu-Oxydulverbindung und fraktioniert die zerlegte Fällung wie oben angegeben mit Blei.

Acetylieren des Carnins und nachfolgende Verseifung liefert Inosin. (F. Haiser und F. Wenzel [4]).)

[1]) Monatsh. f. Ch. 29. 157. (1908).
[2]) Annalen d. Ch. u. Pharm. 158. 356.
[3]) Journ. f. prakt. Ch. (N. F.) 47. 553. (1893).
[4]) l. c.

Digitized by Google

Die Eiweisskörper des Harns.

Von F. N. Schulz-Jena.

A. Allgemeines. Die Eiweissstoffe lassen sich definieren als kolloidale Stoffe, welche die Elemente C, H, N, O, S und unter Umständen auch Fe, P und andere in ziemlich konstanten Mengenverhältnissen enthalten. Sie geben eine Anzahl von Fällungsreaktionen und Farbenreaktionen, die mehr oder weniger spezifisch für die Eiweissstoffe sind und deren man sich daher gern zum Nachweis der Eiweissstoffe bedient. Es ist aber bei der Beurteilung dieser Reaktionen Vorsicht am Platze, so dass man sagen muss, der Beweis für die Gegenwart von Eiweiss kann in zweifelhaften Fällen nur dadurch erbracht werden, dass das Gesamtbild aller Reaktionen sich zu dem vereinigt, was man bei den nachgewiesenen Repräsentanten der Eiweisskörper findet.

Ferner ist es für die Eiweissstoffe charakteristisch, dass sie bei Einwirkung von Säuren, unter gewissen Bedingungen auch von Laugen sowie von Fermenten aufgespalten werden in Aminosäuren. Der Nachweis dieser Aminosäuren nach der Hydrolyse ist eine der sichersten Kriterien für die Eiweissnatur eines fraglichen Stoffes.

Einteilung der Eiweissstoffe.

Eine Einteilung nach rein chemischen Gesichtspunkten etwa wie bei den Kohlehydraten ist für die Eiweissstoffe zurzeit nicht durchführbar. Nachstehendes Schema ist auf Grund verschiedener physikalischer und chemischer Eigenschaften aufgestellt. Es dient als Notbehelf, solange keine rein chemische Einteilung möglich ist.

I. Proteide. Zusammengesetzte Eiweisskörper, die sich in Eiweiss auf der einen Seite und andere Komplexe auf der

Digitized by Google

anderen Seite aufspalten lassen. Hierher gehören: Nucleoalbumin (Albumin + Nucleinsäure), Mucin (Eiweiss + Kohlehydrat), Hämoglobin (Eiweiss + Hämatin), Kasein (Eiweiss + P-Komplex).

II. Eigentliche Eiweissstoffe. Dieselben werden unterschieden in Albumine und Globuline im wesentlichen nach ihrem Verhalten beim Aussalzen mit Neutralsalzen.

III. Albuminoide Substanzen, eiweissähnliche Stoffe, die einfacher gebaut erscheinen, wie die eigentlichen Eiweissstoffe, und denen wesentliche Merkmale der eigentlichen Eiweissstoffe fehlen. Hierher gehören vor allem die bei der Verdauung der eigentlichen Eiweissstoffe entstehenden Verdauungsprodukte (Albumosen und Peptone), ferner der Leim, sowie manche Stützsubstanzen (Elastin etc.).

B. Löslichkeitsverhältnisse. a) In salzfreiem Wasser löslich sind Albumin, Pseudoglobulin, Hämoglobin, Methämoglobin, Protalbumose, sekundäre Albumosen, Peptone.

b) Von den in salzfreiem Wasser unlöslichen Eiweisskörpern lösen sich in (schwachen) Neutralsalzlösungen (den neutral reagierenden Salzen der Alkalien und alkalischen Erden, wie Chlornatrium, Magnesiumsulfat etc.) Euglobulin, die mucinähnliche Substanz und Heteroalbumose.

Auch die sub a) genannten in Wasser löslichen Eiweissubstanzen lösen sich in schwachen Salzlösungen. — Dem rohen Blutfibrin kann durch Salzwasser beigemengtes Globulin entzogen werden.

c) Diese in Wasser unlöslichen Eiweisskörper lösen sich auch in Säuren und in Alkalihydraten, sowie in den alkalisch reagierenden Salzen (kohlensauren und phosphorsauren Alkalien), indem sie mit den Säuren sowohl als mit den Basen lösliche s. g. Salze bilden. Auch die sub a genannten, in salzfreiem Wasser löslichen Eiweissstoffe bilden unter den gleichen Verhältnissen solche Salze. Typisch für diese Salze sind die des Albumins, von welchen das Salz mit Basis, in welchem das Albumin Säure ist, Albuminat, das Salz mit Säure, in welchem Protein Basis ist, Acidalbumin heisst. Das Acidalbumin reagiert auf Lackmus sauer, das neutrale Albuminat neutral, das saure sauer. Entzieht man einem solchen in Lösung befindlichen Salz die Basis oder die Säure durch Zusatz einer anderen Säure (auch zweifach saures Phosphat) oder Basis (Alkali- oder Erdalkalihydrat, Alkalicarbonat, einfach saures oder normales Phosphat) geradeauf, so fällt der Eiweisskörper wieder aus.

Wie Ramsden[1]) gezeigt hat, werden Eiweisskörper (Serumalbumin, Serumglobulin, krystallisiertes Eieralbumin, Casein) durch blosses Schütteln ihrer Lösungen,

[1]) W. Ramsden, du Bois' Archiv 1894. 517; vgl. Ostwald, Ztschr. f. physik. Ch. 15. 704.

Digitized by Google

auch unter Ausschluss von Luft, in unlöslicher Form abgeschieden, wenn die Lösung nicht zu stark alkalisch oder zu salzhaltig ist. Auf diese Weise konnten bis 96,4 % des in Lösung befindlichen Eiweiss abgeschieden werden.

Schüttelt man normalen Harn mit Äther, Chloroform, Amylalkohol, so tritt nach Plósz ein aus mucinähnlicher Substanz bestehender Niederschlag auf. — Nach Boymond[1]) bewirkt Schütteln des eiweisshaltigen Harns mit vermeintlich indifferenten Mitteln (Talk, Presskohle, Kalkcarbonat, Kalkphosphat, gebrannte Magnesia, Magnesiumcarbonat, Wismutsubnitrat) einen Niederschlag von Eiweiss. Das Wismutsalz fällt so Albumin und Globulin vollständig.

C. Koagulation der Eiweissstoffe. Für den Nachweis der Eiweissstoffe ausserordentlich wichtig ist die auf der Kolloidnatur derselben beruhende Eigenschaft, dass dieselben durch verschiedene Agentien aus dem löslichen Zustand in den ungelösten Zustand übergehen können und zwar entweder in Form einer reversibeln Zustandsänderung (z. B. beim Aussalzen) oder in Form einer irreversibeln Zustandsänderung (Koagulation).

1. Eine der wichtigsten irreversibeln Zustandsänderungen ist die Hitzegerinnung (auch Koagulation im engeren Sinne des Wortes).

Von den im Harn vorkommenden Eiweisskörpern geben beim Erhitzen ihrer Lösungen Niederschläge: Albumin, Hämoglobin, Globulin. Diese Koagulation erfolgt bei schwach saurer Reaktion, sowie Anwesenheit einer gewissen Menge von Salzen und zwar schon unterhalb der Siedehitze. aber nicht bei allen bei der gleichen Temperatur.

Die Gerinnungstemperatur lässt sich zur Charakterisierung der Eiweissstoffe verwerten, sowie auch unter Umständen zur Trennung verschiedener Eiweisssorten voneinander. Die Koagulationstemperatur ist abhängig von dem Gehalt der Lösung an Eiweiss, Salz, Säure, sowie auch von der Geschwindigkeit des Erwärmens. So schwankt die Gerinnungstemperatur des Serumglobulin bei Variation der angegebenen Faktoren zwischen 68 und 80°. (Näheres siehe bei den einzelnen Eiweissstoffen, sowie auch in dem Abschnitt „Kochprobe".)

Die Koagulationstemperatur ist nicht nur abhängig von der Art der Eiweisssubstanz, sondern auch von den begleitenden Umständen: der Reaktion der Flüssigkeit, dem Salzgehalt und der Konzentration der Eiweisslösung. Eine Vermehrung des Salzgehalts erhöht meist die Koagulationstemperatur des Albumins und setzt die der Globuline herab. Eieralbumin wird nach Lewith[2]) unlöslich bei einem Wassergehalt der Lösung von 25 % bei 74—80°, mit 18 % Wasser bei 80—90°, mit 6 % bei 145° und wasserfrei bei 160—170°.

Nach Pauli und Handowski erhöhen Salze in sehr niedriger Konzentration den Koagulationspunkt des salzfreien Eiweisses. Erst bei hohem Salzgehalt tritt eine Änderung der Koagulationsbeeinflussung ein; dabei kann je nach der Natur des Anions oder Kations die Koagulierbarkeit erhöht oder herabgesetzt sein. —

[1]) P. Plósz a. a. O. — Boymond, Journ. de Pharm. et de Chem. [5]. **20**. 481. Chem. Zentralbl. 1890. 1. 99.

[2]) S. Lewith, Arch. f. exp. Pathol. **26**. 351. 1890.

Digitized by Google

Quantitative Fällung erfolgt nur bei einem bestimmten, optimalen Säuregehalt (Herlett, Neumeister, Brunner). In salzfreier Lösung erfolgt keine sichtbare Koagulation, wohl aber eine nachweisbare chemische Veränderung (Starke, Erb)[1].

Erwärmt man eine koagulationsfähige Eiweisslösung, so tritt schon unter der Koagulationstemperatur milchige Trübung ein, worauf dann bei höherer Temperatur schnell Abscheidung von Flocken erfolgt. Hält man die Temperatur auf der niederen Höhe konstant, so verwandelt sich die milchige Trübung gleichfalls in Flocken. Sind diese Flocken nur kurze Zeit erwärmt worden, so lösen sie sich (bei Albumin) nach Corin und Ansiaux[2]) beim Abkühlen und Schütteln wieder auf, nach längerem Erwärmen aber erst, nachdem sie durch Filtrieren von der Mutterlauge getrennt worden sind.

Eiweiss, sowie Serumalbumin büssen auf Zusatz von Formaldehyd zu ihren Lösungen nach Blum[3]) die Koagulierbarkeit durch Hitze (und Alkohol, aber nicht die Fällbarkeit durch Alkohol) unter Bewahrung ihrer übrigen chemischen Eigenschaften ein.

2. Koagulation durch Alkohol. In Äthylalkohol sind die in Betracht kommenden Eiweissstoffe unlöslich. Demnach dient Alkohol als Fällungsmittel für die meisten Eiweissstoffe. Die fällende Alkoholkonzentration ist bei verschiedenen Eiweissstoffen verschieden (F. Hofmeister, Tebb). Die Fällung ist zunächst reversibel. Nach kürzerer oder längerer Zeit wird aber bei vielen Eiweissstoffen die Fällung irreversibel, es tritt Koagulation ein. Durch Harnstoff- und andere alkohollösliche Salze wird die Fällbarkeit herabgesetzt (Spiro). — Die höheren Alkohole besitzen ein grösseres Fällungsvermögen (Spiro). Chloroform und Aceton wirken ebenfalls fällend und koagulierend (Salkowski, Weyl)[4]).

D. Das Aussalzen der Eiweissstoffe. Eiweissstoffe können durch Neutralsalze aus ihren Lösungen ausgefällt werden. Es handelt sich um reversibele Fällungen. Praktisch am meisten verwandt werden: Magnesiumsulfat, Ammoniumsulfat, Zinksulfat, Natriumchlorid, Natriumsulfat. Den aussalzbaren Eiweissstoffen kommen bestimmte Fällungsgrenzen zu, wodurch eine Unterscheidung der Eiweissstoffe voneinander vielfach ermöglicht wird.

Im allgemeinen ist zu erwähnen, dass man zur Bestimmung der Fällungsgrenzen mit einem konstanten Gesamtvolum arbeitet, in welchem dann steigende Salzmengen enthalten sind. Man folgt dabei den Vorschriften der Hofmeister-

---

[1]) W. Pauli u. Handowski, Hofmeisters Beiträge **9**. **11**. 415. 1908. — W. Pauli, Ebenda **10**. 53. 1907. — R. Neumeister, Zeitschr. f. Biologie **24**. 272. 1888. — Brunner, Diss. Bern. 1894. — J. Starke, Sitzungsber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. München 1897. 1. — W. Erb, Zeitschr. f. Biol. **41**. 309. 1901; Zentralbl. f. Physiol. **5**. 826; Chem. Zentralbl. 1892. **1**. 672.

[2]) J. Corin u. Ansiaux, Bull. de l'Acad. roy. de Bruxelles [3] **21**. 345; Herlett, Journ. of Physiol. **13**. 693. 1892.

[3]) F. Blum, Zeitschr. f. physiol. Ch. **22**. 127. 1896.

[4]) F. Hofmeister, Ergebnisse der Physiologie (Asher-Spiro). 1. I. 759. 781. 1902. — Tebb, Journ. of Physiol. **30**. 25. 1904. — K. Spiro, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**. 300. 1903. — E. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. **31**. 329. 1901. — Th. Weyl, Ber. d. chem. Gesellsch. **43**. 508. 1910.

Digitized by Google

schen Schule, wonach man auf ein konstantes Gesamtvolum von 10 ccm bringt und nun den Sättigungsgrad durch die Anzahl ccm konzentrierter Salzlösung ausdrückt, welche in den 10 ccm enthalten sind. Man stellt sich z. B. eine Serie in Reagenzgläsern, möglichst von gleicher Weite her, bei welcher in jedem Reagenzglas 1 ccm der zu prüfenden Eiweisslösung, ferner steigende Mengen konzentrierter Salzlösung und dann Wasser zu einem Gesamtvolum von 10 ccm enthalten sind; würde nun etwa in dem Reagenzglas eine Fällung beginnen, welches 3 ccm Salzlösung enthält, so würde die untere Fällungsgrenze des betreffenden Eiweissstoffes bei $^3/_{10}$ Sättigung liegen.

Konzentrierte Eiweisslösungen beginnen etwas früher auszufallen wie verdünnte; die Temperatur ist von Einfluss. Bei saurer Reaktion erfolgt die Fällung in der Regel früher, bei Zusatz von Basen (auch Harnstoff [Spiro]) dagegen später. Details siehe bei den einzelnen Eiweissstoffen.

E. Optische Aktivität. Die Eiweisskörper drehen die Ebene des polarisierten Lichtes nach links.

F. Fällung durch die Salze der Schwermetalle. Im Gegensatz zu den Fällungen durch die Neutralsalze handelt es sich hier um irreversibele Fällungen, bei denen sich das Eiweiss wie ein Suspensionskolloid verhält. Geringe Mengen des Schwermetallsalzes bewirken die Fällung; bei zunehmendem Gehalt an Schwermetallsalz wird ein Maximum der Fällung erreicht, und dann kann bei steigendem Salzgehalt die Fällung wieder absinken bis auf Null, d. h. der ursprünglich entstandene Niederschlag kann sich wieder auflösen. Praktische Anwendung finden Quecksilbersalze (Abeles), Eisensalze (Schmidt-Mülheim, Siegfried), Bleisalze (Hofmeister), Kupfersalze (Hofmeister, Neumeister, Siegfried), ferner Zink (Bömer, Zunz), Uranyl (Jakoby, Glaessner), Platin, Kobalt (Chittenden und Witehouse)[1]). In bezug auf das Verhalten gegenüber solchen Salzen bestehen namentlich wichtige Unterschiede zwischen den gewöhnlichen Eiweissstoffen und den Albumosen bzw. Peptonen. Details s. später.

G. Fällungsreaktionen (Alkaloidreaktionen). Die Eiweisskörper geben selbst in Spuren mit solchen Reagentien Niederschläge, welche auch die Alkaloide fällen (Mylius). Hierher gehören Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Tannin, Jodquecksilberjodkalium, Jodwismutjodkalium, Quecksilberchlorid, Pikrinsäure, Pikrolon-

[1]) Abeles, Zeitschr. f. physiol. Ch. **15**. 495. 1891. — Schmidt-Mülheim, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1880. **33**. — M. Siegfried, Zeitschr. f. physiol. Ch. **21**. 360. 1895. — F. Hofmeister, ebenda **2**. 288. 1878. — R. Neumeister, Zeitschr. f. Biol. **26**. 234. 1890. — M. Siegfried, Zeitschr. f. physiol. Ch. **35**. 164. 1902. — Böhmer, Zeitschr. f. analyt. Ch. **34**. 562. 1895. — Zunz, Zeitschr. f. physiol. Ch. **27**. 219. 1899. — Jakobi, ebenda **30**. 135. 1900. — Glaessner, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **1**. 1. 1901. — Chittenden u. Witehouse, Malys Jahrb. f. Tierch. **17**. 11. 1887.

Digitized by Google

säure, welche bei Gegenwart von freier Mineralsäure (zum Teil auch bei Gegenwart von Essigsäure) eiweissfällend wirken. Ferner rechnet hierher Ferrocyanwasserstoff (Ferrocyankalium und Essigsäure), Nitroprussidnatrium in Gegenwart von Essigsäure, Rhodankalium und Essigsäure, Metaphosphorsäure, Trichloressigsäure, Sulfosalicylsäure, Asaprol (β-Naphthol, α-Sulfonsäure), Aseptol (Orthophenolsulfonsäure) beide in saurer Lösung), Allotellursäure, Wismutsubnitrat und Jodkalium in salzsaurer Lösung (Fron), Uranylacetat (Kowalewski). Natriumsulfantimoniat (Schlippesches Salz) in Gegenwart von freiem Ammoniak; antimonsaures Kali (Palm). Wolframsäure und Molybdänsäure in essigsaurer Lösung (Sonnenschein, Jaworowski). Chromsäure (Kirk, Rosenbach, Guérin, Mandel, Zülzer), Jodjodkalium und Salzsäure (Cohen), Chlorkalk und Salzsäure (Jolles)[1]).

Die Eigenschaft, Eiweiss zu fällen, kommt noch zu: der Nucleinsäure, den Seifen, dem Lecithin (Altmann)[2]), sowie der Taurocholsäure und der Chondroitinschwefelsäure.

Diese Substanzen finden als Reagentien keine Verwendung, sind aber darum von analytischer Bedeutung, weil bei ihrer Gegenwart in Eiweisslösungen auf Zusatz von Säure (Essigsäure) Verbindungen derselben mit Eiweiss als Niederschläge auftreten. Chondroitinsäure und Nucleinsäure kommen nach Mörner immer im Harn vor, Taurocholsäure zeitweilig (siehe dort); das Rhodan und die freien Fettsäuren kommen dabei wegen ihres geringen Fällungsvermögens nicht in Betracht, die Fettsäuren und das Lecithin auch deshalb nicht, weil sie nicht oder nur selten in geringer Menge im Harn enthalten sind.

II. Chemische Umsetzungen zwischen Eiweissstoffen und Anilinfarben. Ausgehend von Fragen der histologischen Färbetechnik hat M. Heidenhain[3]) die Wirkung von Anilinfarben auf Eiweiss (insbesondere Serumalbumin und Kasein) untersucht. Aromatische Sulfosäuren wirken bei genügender Acidität eiweissfällend. Dies tun auch die sulfosauren Azofarbstoffe, die gefärbte Eiweissfällungen hervorrufen. Zu den Farbstoffen, welche sehr intensive Eiweissfällungsmittel sind, gehören Abkömmlinge der Naphtholdisulfosäuren und der Naphtholtrisulfosäuren, sowie der Chromtropsäure. Besonders grosse Fällungskraft

[1]) F. Mylius, Ber. d. chem. Gesellsch. 36. 775. 1903. — Fron, Chem. Zentralbl. 1875. 263. — R. Palm, a. a. O. 26. 36. — F. L. Sonnenschein, Vierteljahrschr. f. gerichtl. Med. [2] 17. Heft 2; Chem. Zentralbl. 1873. 423. — A. Jaworowski, Jahresber. f. Tierch. 1892. 192; Kowalewski, Zeitschr. f. analyt. Ch. 24. 552; Pharmak. Ztg. f. Russland 35. 83; Chem. Zentralbl. 1896. 1. 770. — Kirk, Glasgow med. Journ. April 1884. 320, nach Lecorché u. Talamon, Traité de l'albuminurie. Paris 1888. 40. — Rosenbach, Deutsche med. Wochenschr. 17. 1892; Zeitschr. f. analyt. Ch. 32. 517. — G. Guérin, Journ. de pharm. et de chimie [5] 27. 362; Zeitschr. f. analyt. Ch. 32. 635. — A. B. Cohen, Nedrl. Tijdschr. voor Geneesk. 1889. 2. 561; Jahresber. f. Tierch. 1888. 116. — A. Jolles, Zeitschr. f. analyt. Ch. 29. 406. 1890.

[2]) R. Altmann, Du Bois' Archiv 1889. 524.

[3]) M. Heidenhain, Pflügers Archiv 90. 115. 1902, sowie Münch. med. Wochenschr. 49. 437. 1902.

Digitized by Google

besitzt das Violettschwarz der badischen Anilin- und Sodafabrik. (Natriumsalz der p-Phenylendiamin-azo-α-Naphthylamin-azo-1-Naphthol-4-Sulfosäure.) Es liefert noch bei Verdünnungen an Eiweiss von 1:40000 oder 1:60000 flockige Ausscheidungen. Letzterer Farbstoff wird denn auch von Heidenhain zur Harnuntersuchung empfohlen.

Ich möchte auf Grund orientierender eigener Versuche Bedenken für die Verwertbarkeit aussprechen, da auch normale Harne deutliche Fällungen geben können (Schulz).

J. Farbenreaktionen der Eiweissstoffe.

1. Biuretreaktion. Albuminlösung gibt mit schwefelsaurem Kupfer einen bläulich weissen Niederschlag, der sich in Alkalilauge oder kohlensauren Alkalien mit schön violetter Färbung löst (Rose, Piotrowski)[1]), die Nuance dieser Färbung ist abhängig von der Konzentration der Eiweisslösung und von der Menge des zugesetzten Kupfersalzes. Fügt man zu einer Eiweisslösung zuerst Natronlauge im Überschuss, dann tropfenweise eine verdünnte Kupfervitriollösung und schüttelt nach jedesmaligem Zusatz von Kupfersalz gut um, so wird die Flüssigkeit erst rosa, dann violett, dann immer stärker blau, behält aber bis zuletzt einen deutlichen Stich ins Rote, der namentlich gut hervortritt, wenn man die Flüssigkeit mit einer rein blauen vergleicht. Statt der einzelnen Reagentien lässt sich auch eine alkalische Kupferhydratlösung (Fehlingsche Flüssigkeit) verwenden.

Bei Anstellung der Biuretreaktion soll nicht erwärmt werden, da heisse Natronlauge das Eiweiss bis zum Verschwinden der Biuretreaktion zersetzen kann.

Die Lösung zeigt nach Krukenberg bei Gegenwart von Pepton ein von D 50 E bis F reichendes Absorptionsband. — Enthält die Lösung gleichzeitig gelbe Farbstoffe, so wird das Blau der Biuretfärbung mehr oder minder vollständig ausgelöscht und die Flüssigkeit erscheint dann nur schmutzig rot. Die Reaktion eignet sich schon aus diesem Grunde nicht zur Anstellung im Harn.— Posner[2]) schichtet nach dem Vorschlag Salkowskis auf die alkalisch gemachte Eiweisslösung eine sehr verdünnte (fast farblose) Kupfervitriollösung (z. B. 5 ccm gesättigter Kupfersulfatlösung auf 1 Liter Wasser). — Es gibt Eiweissubstanzen, bei welchen, wie bei dem Mucoid, welches nach der Koagulation von Eiereiweiss in Lösung bleibt, die Biuretfärbung nicht über das Violett hinausgeht. Als Bestandteile des Harns sind solche nicht bekannt.

Eine ammoniakalische Kupfersulfatlösung bleibt nach Gnezda[3]) mit Albumin blau, wird aber mit Albumose violett; die blaue, albuminhaltige Lösung wird auf Zusatz von Kali oder Natron gleichfalls violett, die albumosehaltige rosenrot.

Nickel und Kobalt geben auch eine eigentümliche Biuretfärbung. Die blaue Lösung von Nickelsulfat in Ammoniak wird nach Gnezda mit Albumin blassblau, mit Albumose gelb unter Abscheidung eines flockigen Niederschlags;

[1]) Ferd. Rose, Poggend. Ann. 28. 132. 1833. — Piotrowski, Ber. d. Wiener Akad. 24. 335; Jahresber. f. Ch. 1857. 534.

[2]) C. Fr. W. Krukenberg, Verhandl. d. physik. med. Gesellsch. zu Würzburg, N. F. 18. 202. 1884. — C. Posner, Du Bois' Archiv 1887. 497.

[3]) J. Gnezda, Proceed. of the roy. Soc. 47. 202. 1889; Chem. Zentralbl. 1890. 1. 1030.

Digitized by Google

auf nachträglichen Zusatz von fixem Alkali wird die Albuminlösung gelb, die Albumoselösung orange, beide unter Bildung eines flockigen Niederschlags (Hofmeister, Schiff). — Eine albuminhaltige Kobaltsulfatlösung färbt sich nach Pickering [1]) mit Ammoniak gelb, mit Kali heliotrop, purpurn und in 30—40 Min. ziegelrot; dieselbe Färbung zeigt eine ammoniakalische Lösung auf Zusatz von Kali, bei Gegenwart von nur wenig Albumin wird sie aber braun. Albumose verhält sich gegen Kobaltsulfat und Ammoniak wie Albumin, wird aber mit dem Sulfat und Kali zunächst rötlich purpurn, in 5—10 Sekunden aber rotbraun.

Die Biuretreaktion gelingt auch mit koaguliertem Eiweiss; man übergiesst solches mit einer sehr verdünnten Kupfervitriollösung, entfernt, wenn das Koagulum mit der Lösung durchtränkt ist, dieselbe wieder und bringt darauf das Gerinnsel in mässig verdünnte Natronlauge; das Koagulum nimmt dabei eine schön veilchenblaue Färbung an (Brücke).

Die praktische Bedeutung der Biuretreaktion ist darin zu sehen, dass ihr Fehlen auch das Fehlen von echtem Eiweiss beweist. Nach E. Fischer gibt es aber hochmolekulare Komplexe, die bei der Spaltung durch Säure Aminosäuren liefern, aber keine Biuretreaktion geben. Das durch Einwirkung von salpetriger Säure auf Eiweiss entstehende Desamidoalbumin, sowie das Jodospongin sind Eiweissstoffe, welche die Biuretreaktion nicht zeigen. Der positive Ausfall ist also nicht absolut spezifisch für Eiweiss. Von den Eiweissspaltungsprodukten geben Histidin und Asparagin die Reaktion. Ausserdem sind noch eine ganze Anzahl stickstoffreicher Stoffe bekannt, die diese Reaktion geben. Schiff [2]) hat die Bedingungen genauer untersucht.

Hofmeister gibt die Intensität der Biuretreaktion für das Eiweiss des Rinderblutserums zu 1 : 2000 an. Pepton reagiert nach Neumeister [3]) noch in einer Verdünnung 1 : 100000, Schmidt-Mülheim gibt 1 : 12000 an.

Ammonsalze in höherer Konzentration setzen die Empfindlichkeit herab (Neumeister). Bei hohem Gehalt der zu prüfenden Flüssigkeit an Ammonsulfat ist es zweckmässig, Kalilauge zu verwenden und zwar so viel, dass ein Überschuss an freiem KOH vorhanden ist. Es krystallisiert dann Kaliumsulfat aus. Die Biuretfarbe lässt sich nach dem Absitzen der Krystalle in der überstehenden Schicht beobachten.

2. Xanthoproteinreaktion. Versetzt man wenig einer Albuminlösung mit konzentrierter Salpetersäure und erwärmt, gleichgültig, ob der entstandene Niederschlag wieder in Lösung gegangen war oder nicht, so färbt sich die Flüssigkeit unter teilweiser oder gänzlicher Lösung des vorhandenen Niederschlags zitronengelb; die Albumosen und das Pepton erleiden diese Gelbfärbung schon in der Kälte; übersättigt man die Flüssigkeit mit einem Alkalihydrat, so nimmt sie eine intensiver gelbe oder ins Bräunliche spielende Färbung an. Auch gefälltes Eiweiss gibt diese Reaktion. — Ammoniak ist nur dann für die Übersättigung geeignet, wenn es für sich mit konzentrierter Salpetersäure farblos bleibt.

Die Xanthoproteinreaktion ist von Fourcroy und Vauquellin entdeckt; sie beruht auf der Nitrierung aromatischer Komplexe und zwar in erster Linie auf einer Nitrierung der Oxyphenylgruppe (tyrosinliefernder Komplex), in zweiter Linie auf einer Nitrierung der Indolgruppe (Salkowski, v. Fürth, Rohde) [4]).

[1]) F. Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Ch. **2**. 288. 1878. — H. Schiff Ber. d. chem. Gesellsch. **29**. 298. 1896. — J. W. Pickering, Journ. of Physiol. **14**. 354. 1893.

[2]) H. Schiff, l. c. sowie Liebigs Ann. **299**. 236. 1897 u. **319**. 302. 1901.

[3]) F. Hofmeister, l. c. — R. Neumeister, Zeitschr. f. Biol. **26**. 324. 1889.

[4]) Fourcroy u. Vauquellin, Annales de chim. **56**. 36. 1805. — E. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Ch. **12**. 125. 1888. — O. v. Fürth, Einwirkung von Salpetersäure auf Eiweissstoffe. Habilit.-Schrift Strassburg 1899. — E. Rohde, Zeitschr. f. physiol. Ch. **44**. 161. 1905, auch Diss. Heidelberg 1905.

Digitized by Google

Die Xanthoproteinreaktion ist nicht auf die Eiweissstoffe beschränkt, sondern erstreckt sich auf zahlreiche in Tier- und Pflanzenreich vorkommende Substanzen (z. B. Huminsubstanzen, Eiweissspaltungsprodukte etc.). Die Reaktion ist daher im Harn direkt nicht anwendbar.

3. Millonsche Reaktion. Man setzt zu einer Eiweisslösung reichlich eine Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd und erhitzt zum Kochen. Der Flüssigkeit wird dann abermals reichlich eine Lösung von salpetrigsaurem Kali hinzugefügt. Häufig färben sich schon jetzt Flüssigkeit und Niederschlag rot, sicher tritt aber die Färbung ein, wenn die Mischung abermals gekocht wird. Der Niederschlag ist meist dunkler rot gefärbt, als die Lösung, oft auch der Niederschlag allein gefärbt. Die Reaktion gelingt auch mit Eiweissniederschlägen. Bei Gegenwart von viel Chloriden kann sie nach Salkowski [1]) ganz ausbleiben; auch Alkohol und Wasserstoffsuperoxyd hemmen die Reaktion. Selbstverständlich lässt sich die Reaktion auch mit dem fertigen Millonschen Reagens (S. auch bei Phenol) anstellen.

Käufliches salpetrigsaures Kali gibt oft wegen seines Gehaltes an kohlensaurem Salz mit der Flüssigkeit einen Niederschlag, welcher die Reinheit der Reaktion in erheblicher Weise stört; die Kohlensäure lässt sich am einfachsten durch Zusatz von Salpetersäure aus dem Nitrit entfernen.

Ein grösserer Überschuss von HNO_3 ist zu vermeiden, da sonst nur die Gelbfärbung der Xanthoproteinsäurereaktion zum Vorschein kommt. Bei Verwendung des Millonschen Reagens ist es zweckmässig, das Reagens nach dem Auflösen des Hg mit Alkalilauge bis zur schwach sauren Reaktion abzustumpfen.

O. Nasse [2]) empfiehlt statt des Millonschen Reagens eine wässerige Lösung von Quecksilberacetat, die vor dem Gebrauch mit einigen Tropfen einer 1 %igen Lösung von Kalium- oder Natriumnitrit versetzt wird.

Die Millonsche Reaktion ist eine Gruppenreaktion auf hydroxylierte Benzolderivate. Sowohl die Benzolderivate mit einer Hydroxylgruppe, als auch solche mit zwei Hydroxylgruppen (z. B. Brenzcatechin) geben die Millonsche Probe. Die Reaktion ist negativ bei solchen Benzolderivaten, bei welchen die beiden in Orthostellung zur Hydroxylgruppe befindlichen H-Atome oder die beiden in Metastellung befindlichen substituiert sind (Blum und Vaubel, Lintner) [3]).

Tryptophan gibt eine braunrote Färbung (Abderhalden u. Kempe) [4]).

4. Die Schwefelbleireaktion. Erwärmt man Eiweiss oder Eiweisslösungen mit starker Natron- oder Kalilauge, nachdem man ein Bleisalz (Bleiacetat) hinzugefügt hat, so tritt nach einiger Zeit eine braune bis schwarze Färbung ein. Bei längerem Erwärmen kann sich ein schwarzer Niederschlag abscheiden. Es handelt sich bei dieser Reaktion darum, dass ein Teil des Schwefels der Eiweissstoffe als Schwefelwasserstoff abgespalten wird, was unter den gewählten Bedingungen zur Bildung von schwarzem Bleisulfid führt.

5. Furfurolreaktionen. Reine Eiweisskörper, auch das Pepton, dagegen nicht das Casein und der Leim, liefern nach von Udránszky bei der Destillation mit Schwefelsäure eine Flüssigkeit, in welcher sich durch besondere Reaktionen Furfurol nachweisen lässt. Auch andere Säuren sind zur Bildung von Furfurol geeignet;

[1]) E. Salkowski, Virchows Archiv 81. 552. 1880.
[2]) O. Nasse, Pflügers Archiv 83. 361. 1901.
[3]) F. Blum u. W. Vaubel, Journal f. prakt. Ch. **56**. 393. Ebenda **57**. 365. 1897. — W. Vaubel, Zeitschr. f. angew. Ch. 1900. 1125. — C. J. Lintner, ebenda **1900**. 707.
[4]) Abderhalden u. Kempe, Zeitschr. f. physiol. Ch. **52**. 207. 1907.

Digitized by Google

die Ausbeute ist nach Günther, de Chalmot und Tollens[1]) gering. Der bei der Spaltung der Eiweissstoffe entstehende Zucker ist als Ursache diese Furfurolbildung anzusprechen. Für den Nachweis des Furfurols hat man nicht nötig, es abzudestillieren. Das Eiweiss selbst bildet mit Furfurol farbige Verbindungen und man kann diese entweder mit dem aus Eiweiss selbst, oder aus einer anderen Substanz (Zucker) erzeugten Furfurol herstellen.

a) Reaktionen von Molisch. Seegen[2]) hat gezeigt, dass die von Molisch zum Nachweis von Zucker angegebenen Furfurolreaktionen auch auf (zuckerfreie) Eiweisskörper anwendbar sind, soweit dieselben Zuckerkomplexe in ihrem Molekül enthalten. Casein, welches keinen Zucker im Molekül enthält, gibt die Reaktion nicht.

Versetzt man nach Molisch[3]) 0,5—1 ccm einer Eiweisslösung mit zwei Tropfen einer 15—20 %igen alkoholischen α-Naphthollösung, darauf mit dem vierfachen Volumen konzentrierter Schwefelsäure und schüttelt um, so erhält man (auch vom Pepton) eine granat- oder rubinrote bis violette Lösung. Verdünnt man die Flüssigkeit mit Wasser, so entstehen violette (bei Fibrin braune) Niederschläge, die sich in konzentrierter Salzsäure zumeist mit schön violetter Farbe lösen.

Verwendet man statt der α-Naphthollösung eine ebenso starke alkoholische Thymollösung, so erhält man rote Lösungen, welche bei den meisten Eiweisskörpern durch Verdünnen schmutzig gelbliche oder gelbbraune Niederschläge, beim Pepton aber einen roten Niederschlag geben. Alle diese Niederschläge lösen sich in konzentrierter Salzsäure mit carminroter oder rotvioletter Farbe.

b) Reaktion von Max Schultze. Wenn man einer Lösung von Eiweiss in mässig konzentrierter Schwefelsäure einige Tropfen einer verdünnten Rohrzuckerlösung hinzufügt und die Flüssigkeit auf 60° erwärmt, so färbt sie sich schön bläulich rot. Das Einhalten der Temperatur von 60° ist für das Gelingen der Reaktion von wesentlicher Bedeutung.

6. Tryptophanreaktionen. a) Reaktion von Adamkiewicz. Eine Lösung von Eiweiss in Eisessig nimmt auf Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure eine schön violette Färbung und schwache grünliche Fluorescenz an; bei geeigneter Konzentration zeigen die Lösungen im Spektrum einen Absorptionsstreifen zwischen b und F, wie das Urobilin, welchem nach Krukenberg[4]) ein Streifen zwischen D und E vorhergeht. Die Probe gelingt nach Krukenberg mit allen Eiweisskörpern, auch mit Pepton, dagegen mit Leim und seinen Abkömmlingen nicht.

Man kann die Probe so anstellen, dass man die Lösung in Essigsäure der konzentrierten Schwefelsäure hinzufügt, oder dass man der Mischung beider Säuren die Eiweisslösung tropfenweise zusetzt. Hammarsten erhitzt eine kleine Menge der Eiweisslösung oder der festen Substanz in einem Gemisch von 1 Vol. konzentrierter Schwefelsäure und 2 Vol. Eisessig zum Sieden, wobei die violette Farbe besser als bei Zimmertemperatur hervortritt. Nach Wurster gelingt die Reaktion am sichersten und schönsten, wenn man der Probe einige Körnchen Kochsalz hinzufügt. Schichtet man nach Posner die Lösung des Eiweisses in Eisessig auf die

[1]) L. v. Udránsky, Zeitschr. f. physiol. Ch. 12. 392. 1888. — A. Günther, G. de Chalmot u. B. Tollens, Ber. d. chem. Gesellsch. 25. 2569. 1892.

[2]) Seegen, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1886. 802.

[3]) H. Molisch, Monatshefte f. Chemie. 7. 198; Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1887. 49.

[4]) Adamkiewicz, Pflügers Archiv 9. 156. 1874; Ber. d. chem Gesellsch. 8. 161. 1875; Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1875. 856; Arch. f. exper. Pathol. 3. 423; Zeitschr. f. analyt. Ch. 15. 467. — Krukenberg, Chemische Untersuchungen 1. 100. 1886.

Digitized by Google

konzentrierte Schwefelsäure, so entsteht an der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten ein violetter Ring von stärkerer Färbung, als wenn man mischt. Der dabei entstehende urobilinähnliche Farbstoff lässt sich nach Michailow[1]) aus der Lösung durch Sättigen mit Ammonsulfat, neben Eiweiss, abscheiden und dem Niederschlag durch Alkohol entziehen.

v. Udránsky deutete auch diese Reaktion als Furfurolreaktion. Auch Hofmeister[2]) akzeptierte zunächst diese Meinung und erklärte demnach die Reaktion so, dass er sie als analog der Reaktion von Molisch auffasste, nur mit dem Unterschied, dass hier nicht nur das furfurolliefernde Kohlehydrat, sondern auch der aromatische Komplex aus dem Eiweiss stamme.

Hopkins und Cole[3]) haben jedoch gezeigt, dass es sich gar nicht um eine Furfurolreaktion handelt, sondern dass die Reaktion darauf beruht, dass der gewöhnliche zu dieser Reaktion verwandte Eisessig Glyoxylsäure (HOC.COOH) als Verunreinigung enthält. Durch Destillation kann die Glyoxylsäure entfernt werden und dann geht die Reaktion nicht mehr.

Man stellt die Reaktion daher zweckmässig nicht mehr wie oben angegeben an, sondern versetzt die Eiweisslösung mit verdünnter Glyoxylsäurelösung und schichtet diese Mischung auf konzentrierte Schwefelsäure auf. Hopkins und Cole zeigten ferner, dass die zweite Komponente bei dieser Reaktion in der Tryptophan liefernden Gruppe zu suchen ist. — Die Glyoxylsäurelösung stellt man sich her, indem man zu starker Oxalsäure etwas Natriumamalgam hinzugibt und nach beendigter Gasentwickelung filtriert.

b) α. Reaction von Acrée[4]) mit Formaldehyd. Man setzt zu dem Eiweisskörper eine geringe Portion Formaldehydlösung 1 : 5000. Unterschichtet man nun mit konzentrierter Schwefelsäure, so entsteht eine violette Zone.

β. Die Reaktion von Voisinet[5]). Setzt man zu einem in Wasser gelösten oder suspendierten Eiweissstoff etwas salpetrige Säure enthaltende Salzsäure oder Schwefelsäure bei Gegenwart von Formaldehydspuren, so färbt sich die Flüssigkeit je nach der reagierenden Formaldehydmenge schwach violettrosa bis dunkelviolettblau. Man verwendet konzentrierte Salzsäure, der pro Liter ½ bis ¼ ccm 3,6 %iger Kaliumnitritlösung zugesetzt werden. Zu 2—3 ccm Eiweisslösung setzt man 1 Tropfen 5%iger Formollösung und verdünnt dann die Flüssigkeit mit dem dreifachen Volumen der nitrithaltigen Salzsäure. Erwärmen auf 50° begünstigt die Reaktion. Die Reaktion ist ebenfalls auf die Indolgruppe zurückzuführen. Die Reaktion ist sehr scharf.

c) Reaktion von Liebermann. Die bekannte Violettblaufärbung, welche Eiweiss beim Erhitzen mit Salzsäure erleidet, tritt am schönsten ein, wenn man die Probe erst durch wiederholtes Auskochen mit Alkohol, dann durch wiederholte Extraktion mit Äther entfettet und darauf mit konzentrierter, am besten rauchender Salzsäure erhitzt oder mit der heissen Säure auf einer weissen Unterlage übergiesst. Statt der Salzsäure verwendet man nach Wurster besser eine

---

1) O. Hammarsten, Pflügers Archiv **36**. 389. 1885. — C. Wurster, Zentralbl. f. Physiol. 1887. 193. — C. Posner, Virchows Archiv **104**. 503. 1886. — W. Michailow, Berichte d. chem. Gesellsch. **17**. Ref. 255. 1884.

2) Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Ch. **24**. 159. 1897. — L. v. Udránsky, ebenda **12**. 355 und **13**. 248.

3) F. G. Hopkins und Sydney W. Cole, Proceed. of the royal Soc. **68**. 21. 1901, sowie Journ. of Physiol. **27**. 418. 1901. — W. Cole, Journ. of Physiol. **30**. 311. 1904.

4) Acrée, Americ. chem. Journ. **37**. 604. 1907. Chem. Zentralbl. 1907. II. 429.

5) E. Voisinet, Bullet. Soc. Chim. de Paris. (3) **33**. 1198. 1905.

Digitized by Google

Mischung von gewöhnlicher Salzsäure mit 1/10—1/5 Vol. konzentrierter Schwefelsäure. Nach Krukenberg [1]) weist die Flüssigkeit einen breiten auf E und b und nach beiden Seiten darüber hinausliegenden Absorptionsstreifen auf.

Die Reaktion gelingt nach Liebermann mit den meisten Eiweisskörpern, jedoch nicht mit dem Chondrin, Keratin, ferner nach le Nobel nicht mit dem in gesättigter Ammonsulfatlösung löslichen Pepton. Die Probe versagte Liebermann mit dem mucinartigen Körper des Pferdeharns, nach Posner [2]) deshalb, weil zu wenig Harn zu dem Versuch verwandt wurde. Hämoglobin ist für die Reaktion nicht geeignet.

Auch diese Reaktion ist zunächst als Furfurolreaktion gedeutet worden (Hofmeister). Es ist jedoch neuerdings wahrscheinlich gemacht, dass auch hier das Tryptophan in Reaktion tritt (Cole, Abderhalden und Kempe)[3]) und zwar analog wie bei der Reaktion von Adamkiewicz mit Glyoxylsäure, welche den Äther verunreinigt (Cole). — Dagegen ist allerdings zu bemerken, dass bei genügend langem Erwärmen mit konzentriertem HCl auch Eiweiss, das nicht mit Äther in Berührung war, die Violettfärbung zeigt.

Auch bei Verwendung von Schwefelsäure kommt eine Violettfärbung zustande (Elliot) [4]).

d) Reaktionen mit aromatischen Aldehyden.

α) Reaktion von Neubauer und Rhode [5]). Versetzt man eine Eiweissauflösung oder auch aufgeschwämmtes Eiweiss mit 5—10 Tropfen einer 5 %igen Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in 10 %iger Schwefelsäure und lässt dann unter Umschütteln konzentrierte Schwefelsäure zufliessen, so tritt eine rotviolette Färbung auf, die allmählich dunkelviolett wird. Spektroskopisch findet man einen breiten verwaschenen Streifen in Orange und einen zweiten undeutlichen in Grün. Von den bekannten Eiweissspaltungsprodukten gibt nur das Tryptophan die Reaktion.

Steensma [6]) benutzt als Reagentien 1. ein 2 %ige Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in 96 %igem Alkohol und 2. eine 0,5 %ige Lösung von Natriumnitrit in Wasser. Man kocht das Eiweiss bzw. die Eiweisslösung mit einer Salzsäure von 25 % und einer genügenden Menge des Reagens I. Die Flüssigkeit nimmt eine rote Farbe an (wie bei der oben beschriebenen Reaktion). Jetzt fügt man einige Tropfen der Natriumnitritlösung hinzu und bekommt dann eine intensiv blaue Farbe. Der blaue Farbstoff geht nicht in Chloroform über. Die Reaktion fällt mit Salzsäure schöner aus wie bei Verwendung von Schwefelsäure (Rhode). Eine Verwechselung mit der Liebermannschen Reaktion ist durch das Hinzufügen der Nitritlösung ausgeschlossen.

β) Reaktion mit Vanillin von Steensma. Die Reagentien bestehen aus einer 5 %igen Lösung von Vanillin in Alkohol (96 %) und einer Lösung von Natriumnitrit in Wasser (0,5 %). Die Reaktion wird in gleicher Weise wie beim p-Dimethylaminobenzaldehyd beschrieben ausgeführt. Die Farbe ohne Hinzufügen von Nitrit ist rot (Rhode), nach Hinzufügen der Nitritlösung blau (Steensma).

---

1) L. Liebermann, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1887. 321 u. 450. — Krukenberg, Verhandl. d. physik. med. Gesellsch. zu Würzburg N. F. 18. 201. 1884.

2) le Nobel, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1887. 625. — Posner, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1887. 420.

3) Hofmeister, Leitfaden für d. prakt. chem. Unterricht d. Mediziner. 1899 (Verlag Vieweg). — Sydney W. Cole, Journ. of physiol. **30.** 311. 1904. — E. Abderhalden u. M. Kempe, Zeitschr. f. physiol. Ch. **52.** 207. 1907.

4) J. H. Elliot, Journ. of physiol. **23.** 296. 1898.

5) O. Neubauer, Sitzungsber. d. Gesellsch. f. Morphol. u. Physiol. München 1903. 32. — Verhandl. d. Gesellsch. d. Naturf. u. Ärzte 1903. 68. — E. Rhode, Zeitschr. f. physiol. Ch. **44.** 161. 1905.

6) F. A. Steensma, Zeitschr. f. physiol. Ch. **47.** 25. 1906.

Digitized by Google

γ) Reaktion mit p-Nitrobenzaldehyd. Eiweiss mit p-Nitrobenzaldehyd in Substanz und Salzsäure gekocht gibt eine grüne Farbe (Rhode). Diese Farbe geht nach Hinzufügen von Natriumnitritlösung in ein schönes dunkles Blau über (Steensma).

δ) Reaktion mit Benzaldehyd nach Reichl[1]). Eiweiss gibt mit 2—3 Tropfen alkoholischer Benzaldehydlösung und gleichem Volum verdünnter Schwefelsäure oder konzentrierter Salzsäure und 1 Tropfen Ferrisulfatlösung oder einer anderen oxydierenden Substanz dunkelblaue Färbung. Die Schwefelsäure lässt sich auch durch konzentrierte Salzsäure, das Ferrisulfat durch Eisenchlorid, Salpetersäure, Quecksilberoxyd und andere oxydierende Substanzen ersetzen. Der blaue Körper ist in Wasser und Säuren löslich und zeigt einen Absorptionsstreifen bei D. Alkalihydrate geben mit der Lösung einen braunen Niederschlag, der sich nach dem Auswaschen in Säuren wieder mit blauer Farbe löst. Die Reaktion wird nur noch mit 6%igen Eiweisslösungen erhalten. Die Reaktion ist bis jetzt nur mit Eier- und Serumeiweiss, Casein, Fibrin, Wolle und pflanzlichen Eiweisskörpern angestellt worden. — Auch viele andere Aldehyde gehen die Reaktion ein; Salicylaldehyd färbt blau bis violett, Piperonal veilchenblau, Vanillin rot, violett, veilchenblau, Anisaldehyd violett und blau. Da Indol und Skatol mit Benzaldehyd blaue und braune Kondensationsprodukte geben, so scheint diese Gruppe im Eiweiss die Reaktion zu bewirken.

7. Diazoreaktion nach Petri[2]). Versetzt man eine Eiweiss- oder Albumosenlösung mit Diazobenzolsulfosäure, so tritt nur eine schwache Gelbfärbung ein; macht man die Mischung aber mit fixem Alkali alkalisch, so wird die Flüssigkeit, je nach ihrer Konzentration, orangegelb bis braunrot und gibt einen roten Schüttelschaum.

Die Lösung absorbiert das Licht vom violetten Ende, je nach der Konzentration, bis in das Rot. Ammoniak gibt gleichfalls eine intensive, aber nur gelbe Färbung ohne Beimischung von Rot.

Versetzt man eine solche gelbrote Flüssigkeit mit Zinkstaub oder Natriumamalgam, so wird sie, bei gleichzeitigem Luftzutritt, schön fuchsinrot. Bei geeigneter Verdünnung zeigt sie dann zwei Absorptionsstreifen, einen von D bis F und einen zweiten von G bis zum violetten Ende reichenden. Beim Neutralisieren wird die fuchsinrote Lösung gelb, beim Übersättigen mit einer Mineralsäure wieder rot, aber in anderer Nuance als vorher, und weist dann eine von D beginnende Absorption, ohne Aufhellung im blauen Teil, auf. Organische Säuren rufen dieses Rot nicht hervor. Ammoniak färbt die Flüssigkeit bloss gelb, fixes Alkali im Überschuss dagegen wieder fuchsinrot. Bei der Reduktion unter Abschluss der Luft entsteht eine gelbliche Flüssigkeit, die bei Luftzutritt fuchsinrot wird. — Traubenzucker gibt nach Petri ganz dieselben Farbenerscheinungen (S. 382).

8. Eine Eiweisslösung färbt sich wie das Tyrosin (s. dort) beim Erwärmen mit etwas trockenem Chinon nach Wurster[3]) tiefrubinrot; nach längerem Stehen wird die Flüssigkeit braun.

Mit den verschiedensten Chinonen lassen sich ähnliche Farbenreaktionen erzielen (Raciborski)[4]).

9. Bei aufeinander folgender Behandlung von (festem) Eiweiss mit salpetriger Säure und alkalischen Lösungen von Phenolen (Phenol, Resorcin, Pyrogallol, α- und β-Naphthol) färbt es sich nach Obermayer[5]) intensiv, meist rot oder braun. Die Reaktion beruht, wie die ähnliche des Tyrosins (s. dort), auf der Bildung einer Diazoverbindung.

---

1) Reichl, Monatsh. f. Ch. **10**. 317. 1889 u. **11**. 155. 1890.
2) Petri, Zeitschr. f. physiol. Ch. 8. 294. 1884.
3) Wurster, Zentralbl. f. Physiol. 1887. 195.
4) M. Raciborski, Anzeig. d. Akad. d. Wissensch. in Krakau 1906. 553.
5) F. Obermayer, Ber. d. chem. Gesellsch. **27**. Rf. 354. 1894.

Digitized by Google

10. Reaktion von Fröhde[1]. Beim Behandeln von festem Albumin mit molybdänsäurehaltiger. Schwefelsäure färbt es sich schön dunkelblau.

11. Versetzt man nach Michailow[2]) Eiweiss oder einen noch Stickstoff und Schwefel enthaltenden Abkömmling desselben mit Eisenvitriol, schichtet die Mischung auf konzentrierte Schwefelsäure und fügt vorsichtig sehr wenig Salpetersäure hinzu, so treten ausser dem braunen Ringe des Stickoxyd-Eisenoxydulsalzes noch Ringe von blutroter Farbe (Rhodaneisen?) auf. Eine schwache Rosafärbung zeigt sich auch allein beim Zusammenbringen der Reagentien.

12. Säuert man nach Axenfeld Eiweisslösung mit Ameisensäure an, fügt 0,1 %ige Goldchloridlösung tropfenweise hinzu und erwärmt, so färbt sich die Lösung erst rosenrot, darauf purpurrot, dann nach weiterem Zusatz von Goldchlorid blau und endlich tritt ein blauer flockiger Niederschlag ein. Albumosen werden nach Pickering[3]) nur rötlich violett. Für Eiweiss charakteristisch ist nur die Rotfärbung; blau und violett wird die Probe auch durch viele andere Körper, wie Traubenzucker, Glykogen, Stärkemehl, Leucin, Tyrosin, Harnsäure, Harnstoff, Kreatinin etc. Reiner Leim gibt eine dichroitische braune und rötliche Färbung, Guanin eine schön purpurrote, die jedoch, zum Unterschied vom Eiweiss, durch fixes Alkali in Orangegelb übergeht. — Die Probe ist sehr empfindlich, Kochsalz, Harnstoff, Harnsäure, Traubenzucker hindern nur in grossen Mengen und es bedarf dann zur Hervorrufung der Eiweissreaktion eines stärkeren Zusatze von Ameisensäure und Goldchlorid.

Die Farbenreaktionen können vielfach auch mit Eiweissniederschlägen, sowie mit dem Ferrocyanwasserstoff- (Winternitz)[4]), dem Phosphorwolframsäureniederschlag etc. erhalten werden.

Allgemeines über Vorkommen von Eiweiss im Harn.

Man kann drei Arten der Eiweissausscheidung durch den Harn unterscheiden.

I. Der normale Eiweissgehalt eines jeden Harns, der sich nicht durch die gewöhnlichen Eiweissproben (z. B. Kochprobe, Hellersche Probe, Essigsäure-Ferrocyankaliumprobe), sondern unter Anwendung bestimmter Methoden (s. später) nachweisen lässt. Mit seinem Reagens (s. später) hat Spiegler bei Gesunden ausserordentlich oft geringe Spuren Eiweiss im Harn angetroffen.

II. Die physiologische Albuminurie, eine durch bestimmte, zu besprechende Momente hervorgerufene Steigerung des normalen Eiweissgehaltes, bis zur Grenze der direkten Nachweisbarkeit durch die gewöhnlichen Eiweissreaktionen. Für die physiologische Albuminurie ist es charakteristisch, dass keine Organschädigungen, Nephritis etc., zugrunde liegen.

[1]) Fröhde, Zeitschr. f. analyt. Ch. 7. 266.
[2]) W. Michailow, Ber. d. chem. Gesellsch. 17. Ref. 450.
[3]) D. Axenfeld, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1885. 209. — J. W. Pickering, Journ. of Physiol. 14. 376. 1893.
[4]) H. Winternitz, Zeitschr. f. physiol. Ch. 16. 439. 1892.

Digitized by Google

III. Die pathologische Albuminurie als Folgezustand krankhafter Beeinflussung der bei der Harnsekretion in Betracht kommenden Faktoren (Albuminurie im alten, engeren Sinne des Wortes).

Unter pathologischen Verhältnissen können von Eiweisskörpern im Harn auftreten: Serumalbumin, Serum- (oder Para-) globulin, Albumosen, Pepton, Hämoglobin, Methämoglobin, Fibrin, wahrscheinlich auch Fibrinogen. Es kommt entweder der eine oder der andere für sich allein vor, oder es finden sich mehrere nebeneinander (Albumin oder Globulin, Albumin, Globulin und Hämoglobin).

I. Der normale Eiweissgehalt des Harns.

Dass in jedem Harn sich Spuren von Eiweiss nachweissen lassen, ist unzweifelhaft. Man kann vielleicht zweierlei verschiedene Eiweissarten von vorneherein annehmen. Eine mucinartige oder nucleoalbuminartige Eiweisssubstanz, die nach früher Gesagtem zu den Proteiden zu rechnen wäre und einen gewöhnlichen Eiweissstoff albumin- oder globulinartiger Natur. Man ist geneigt, diesen beiden Eiweissarten verschiedene Bedeutung beizumessen. Die mucinartige (nucleoalbuminartige) Substanz soll ein Sekret der die Harnwege auskleidenden Schleimhäute sein, während das echte Eiweiss bei dem eigentlichen Sekretionsvorgang des Harns in den Nieren in den Harn gelangt.

a) Die Nubekula. Lässt man Harn stehen, so scheidet sich nach einiger Zeit eine mehr oder weniger starke, wolkige Trübung aus, die man als Nubekula bezeichnet. Durch schwaches Ansäuern des Harns mit Essigsäure kann ebenfalls eine Fällung einer eiweissartigen Substanz hervorgerufen werden. Die Fällbarkeit durch Essigsäure ist eine Eigenschaft vieler Proteide (z. B. Mucin, Nucleoalbumin). Man war daher zunächst geneigt, im Harn vorgebildete Proteide ohne weiteres für diese Fällungen verantwortlich zu machen (Näheres siehe bei Harnmucoid und bei Nucleoalbumin des Harns).

Wie misslich es ist, auf Grund einfacher Löslichkeitsverhältnisse Eiweissstoffe zu charakterisieren, zumal wenn sie in unreinem Zustand und in komplizierten Salzlösungen zur Untersuchung gelangen, ist jedem, der sich mit Eiweissstoffen beschäftigt hat, bekannt. Es sind daher gerade bei den Harneiweissstoffen vielfach Irrtümer unterlaufen. Schlagend hat das Mörner[1]) dargetan. Er zeigte, dass im Harn eiweissfällende Substanzen vorkommen, die sich beim Ansäuern mit Essigsäure mit gewöhnlichem Eiweiss zu unlöslichen Stoffen vereinigen. Hierher

[1]) K. A. H. Mörner, Skandinav. Arch. f. Physiol. 6. 403. 1895.

Digitized by Google

gehört vor allem die Chondroitinschwefelsäure und die Nucleinsäure sowie unter manchen Bedingungen die Gallensäuren. Es lässt sich nach Mörner unter geeigneten Versuchsbedingungen (s. später) aus jedem Harn durch Essigsäure ein Eiweissniederschlag gewinnen, der aber nicht als Mucin oder Nucleoalbumin aufzufassen ist, sondern sekundär durch Paarung einer eiweissfällenden Substanz mit primär vorhandenem gewöhnlichem Eiweiss entstanden ist. Es ist daher ersichtlich, dass man mit der Annahme einer mucin- oder nucleoalbuminartigen Substanz im Harn sehr vorsichtig sein muss. Die Menge des in dem vermeintlich eiweissfreien Harn vorkommenden Eiweisses lässt sich nach Mörners Bestimmungen auf 36 mg (22—78 mg) im Liter schätzen. Der Harn enthält aber an eiweissfällenden Säuren soviel, dass sie gut die doppelte Menge Eiweiss niederschlagen können, wie das in der Tat geschieht, wenn bei sonst gesunden Personen (Kindern, jungen Männern) noch unter physiologischen Verhältnissen Eiweiss in grösserer Menge ausgeschieden wird (transitorische Albuminurie).

b) Methoden zum Nachweis des normalen Eiweissgehaltes des Harns.

1. Methoden von Posner. a) Harn wird mit einer mindestens dreifachen Menge Alkohol oder auch mit konzentrierter Tanninlösung versetzt. Der entstandene Niederschlag wird mit Wasser ausgewaschen und durch Essigsäure gelöst. — b) Harn wird mit Essigsäure versetzt und durch Eindampfen konzentriert. — In beiden Fällen werden dann mit der essigsauren Lösung Eiweissreaktionen angestellt. Posner fand bei 70 Gesunden (Erwachsenen und Kindern) auf diese Weise Eiweiss. Nachprüfungen durch Senator, Duden, v. Noorden, Leube, Simader[1]) führten zu dem gleichen Ergebnis, vorausgesetzt, dass genügend grosse Harnmengen zur Untersuchung gelangen. Bei kleineren Harnmengen ist der Befund manchmal negativ.

2. Methode von Plosz[2]). Filtrierter Harn wird mit Essigsäure stark angesäuert und mit Äther oder Chloroform oder Amylalkohol geschüttelt. Es scheiden sich dabei Gerinnsel ab, deren Eiweissnatur durch geeignete Reaktion dargetan werden kann.

3. Die Methode von K. A. H. Mörner[3]). Von der Ansicht ausgehend, dass es im wesentlichen die dialysabeln Harnbestandteile sind,

[1]) C. Posner, Berl. klin. Wochenschr. 1885. Nr. 41, sowie Virchows Archiv **104**. 497. 1886. — H. Senator, Die Albuminurie, 2. Aufl. 427. — Duden, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1887. 238. — C. v. Noorden, Berl. klin. Wochenschr. 1886. 166 sowie 1890. 215. — W. Leube, Zeitschr. f. klin. Med. **13**. 1. 1888. — P. Simader, Zeitschr. f. Tiermediz. N. F. **1**. 404. 1897.

[2]) P. Plosz, Orvosi Hetilap. 1890. 504; Jahresber. f. Tierch. **20**. 215. 1890.

[3]) K. A. H. Mörner l. c.

Digitized by Google

welche eine Fällung der Harneiweissstoffe durch Säure, bezw. mit Chloroform etc. erschweren, wird der Harn zunächst einer ausgiebigen Dialyse unterworfen. Harn, mit Chloroform oder Thymol versetzt, wird 24 Stunden gegen fliessendes Leitungswasser dialysiert. Der dialysierte Harn wird dann mit 0,1—0,2 Prozent Essigsäure versetzt und mit einem Überschuss von Chloroform geschüttelt. Es ist zweckmässig, das Schütteln ohne Wechseln des Chloroforms häufiger zu wiederholen. Nach längerer oder kürzerer Zeit hat sich ein Niederschlag abgesetzt, der teilweise in der trüben Chloroformschicht, teilweise in einer Grenzschicht zwischen Chloroform und Harn sich befindet, der überstehende Harn ist völlig klar. Die Abscheidung ist meist erst nach mehreren Tagen so vollständig, dass der Harn völlig klar wird. Der Niederschlag wird auf einem Filter gesammelt, indem man die trüben Schichten filtriert.

Der Niederschlag wird in Wasser, das schwach ammoniakalisch ist, gelöst und dann durch Essigsäure (wenn nötig unter Schütteln mit Chloroform) nochmals gefällt. Zur weiteren Prüfung wird eine schwach ammoniakalische Lösung dieses Niederschlages benutzt. Nach Mörner gibt diese Lösung die Reaktion von Millon, Adamkiewicz, die Biuretprobe, die Hellersche Probe, ferner Fällung mit Metaphosphorsäure, Sulfosalicylsäure, Trichloressigsäure, Pikrinsäure + Zitronensäure (Esbachsches Reagens) und Gerbsäure.

Mörner fand stets Eiweiss auf diese Weise in Harnen, die keine Hellersche Probe gaben.

4. Verfahren nach Ott[1]). Man versetzt Harn mit dem gleichen Volum konzentrierter Kochsalzlösung und dann mit Almènscher Lösung, es entsteht dabei ein Niederschlag, der beträchtlicher ist, wie der durch Essigsäure erzeugbare. Nach Ott soll der entstehende Niederschlag ein Nucleoalbumin sein. Nach den Untersuchungen Mörners ist es aber wahrscheinlich, dass es sich um die Wirkung „eiweissfällender Substanzen" handelt.

Almènsche Lösung. 4,0 g Acid. tannic. purum, 8 ccm 25 %iger Essigsäure, 190 ccm 40—50 %iger Alkohol.

5. Verfahren von Rusconi[2]). 100 ccm Harn werden mit 10 ccm Barytwasser versetzt, nach 10 Minuten wird filtriert, der Niederschlag ausgewaschen und im Wasserbade getrocknet.

Der Niederschlag gibt eine Reihe von Eiweissreaktionen. 1. Reaktion von Acrèe[3]): Der Niederschlag wird mit Formaldehydlösung (1: 5000) versetzt und dann konzentrierte Schwefelsäure unterschichtet. Es tritt Violettfärbung an der Berührungsstelle ein. 2. Biuretreaktion. 3. Die Reaktion von Adamkiewicz. 4. Die Millonsche Reaktion.

Der Niederschlag ist nicht löslich in 2/1 n HCl, nicht löslich in heissem Wasser, nicht löslich in überschüssigem Barytwasser. Daher schliesst Rusconi Albumosen, Peptone sowie Nucleoalbumin aus.

[1]) A. Ott, Verhandl. d. 13. Kongr. f. inn. Med. 1895. — Zentralbl. f. inn. Med. 16. Beilage zu Nr. 21. 38. 1895.

[2]) A. M. Rusconi, Arch. di farm. sperim. 8. 34. 1909. — Chem. Zentralbl. 1909. I. 1252.

[3]) S. F. Acrèe, Americ. Chemic. Journ. 37. 604.

Digitized by Google

Nach dem, was vorher über die Bedeutung der einzelnen Eiweissreaktion gesagt ist, sind die angeführten Reaktionen nicht als Beweise anzusehen; jedoch scheint die Unlöslichkeit der die Reaktionen gebenden Substanz in den genannten Lösungsmitteln dafür zu sprechen, dass wirklich Eiweiss in den Barytniederschlag übergegangen ist. — Heinrich[1]) hat bei einer Nachprüfung die Angaben Rusconis nur zum Teil bestätigen können.

Simader kombiniert das Verfahren von Posner mit der Dialyse. Er lässt den mit Essigsäure versetzten, filtrierten Harn 24 Stunden stehen und filtriert nochmals, um so eine eventuell entstandene Mucinfällung zu entfernen. Dann wird auf $^1/_{10}$ bis $^1/_{20}$ Volum eingeengt. Nunmehr wird durch Dialyse die Hauptmenge der Salze entfernt und dann entweder durch die gewöhnlichen Eiweissreagentien oder durch Schütteln mit Chloroform das Eiweiss nachgewiesen.

Lecorché und Talamon haben Zweifel daran geäussert, dass der nach Posner gewonnene Niederschlag auch wirklich Eiweiss enthält. Nach Simader sind diese Zweifel aber nicht berechtigt, da der durch Essigsäure-Ferrocyankalium erzeugte Niederschlag sowohl die Millonsche Reaktion, als auch die Biuretprobe gab.

Simadar[2]) fand nach Entfernung der Mucinsubstanz (s. oben) auch bei Tieren stets Eiweiss (Pferd, Hammel, Rind, Stier, Hund), wobei er es aber unentschieden lässt, ob das Eiweiss des normalen Harns Albumin oder Globulin oder Nucleoalbumin ist.

Bellocq[3]) will mit dem Tanretschen Quecksilberreagens Eiweiss als normalen Harnbestandteil nachgewiesen haben.

Versuche von Heinrich[4]), aus dem neutralisierten Harn mit neutralem Bleiacetat das normale Harneiweiss auszufällen und dann im Niederschlag nachzuweisen, führten zu keinem befriedigenden Ergebnis; ebensowenig Versuche mit Bleiessig und mit Bleiessig und Ammoniak. Dagegen gelang ihm der Nachweis sicher mit Spieglers Reagens. Er spricht die nach Zerlegung des Niederschlags mit SH_2 erhaltene Eiweissubstanz mit grosser Wahrscheinlichkeit als Serumalbumin an.

Die Menge der nichtdialysabelen Stoffe des Harns wurden von Mme. Eliacheff[5]), sowie neuerdings von Sasaki, Savaré, Ebbecke bestimmt. Die letztgenannten Untersucher benutzten Schilfschläuche, in welchen sie den Harn 24—48 Stunden der Dialyse unterwarfen (s. S. 19). Die Menge der nicht dialysabeln Stoffe beträgt nach Sasaki 0,218 bis 0,68 g im Liter. Bei Fieber, sowie bei Eklampsie war die Menge beträchtlich vermehrt (Sasaki, Savaré). Die Menge ist abhängig vom Stoffumsatz, bei Männern grösser wie bei Frauen, bei Hunden deutlich abhängig von der Nahrungszufuhr (Ebbecke). Bei Pneumonie sind diese Stoffe ebenfalls vermehrt. Im normalen Harn liessen sich Chondroitinschwefelsäure, Nucleinsäure, geringe Mengen von Proteinen im adialysabelen Rückstand nachweisen. Bei Pneumonie

[1]) O. L. Heinrich, Diss. Rostock 1910.
[2]) P. Simader l. c.
[3]) Bellocq, Journ. pharm. chim. [6] **11**. 478. 1899.
[4]) Otto Lang Heinrich, l. c.
[5]) Mme. Eliacheff, Mem. de la Soc. de Biol. [9] **3**. 71. 1891. — K. Sasaki, Hofmeisters Beiträge **9**. 386. 1907. — M. Savaré, ebenda **9**. 400 und **11**. 71. 1907. — U. Ebbecke, Biochem. Zeitschr. **12**. 485. 1908.

Digitized by Google

war eine peptonartige Substanz in grösserer Menge, neben geringeren Mengen von Albumosen, im adialysabeln Rückstand enthalten.

Lichtwitz und Rosenbach[1]) stellten fest, dass der Harn des Menschen Kolloide enthält, welche auf kolloidale Goldlösung einen Schutz ausüben. Beteiligt sind an der Schutzwirkung die eiweissfällenden Substanzen und das komplexe Kohlehydrat Salkowskis.

II. Die verschiedenen Eiweissstoffe des Harns.

I. Albumin.

A. Eigenschaften. Wahrscheinlich sind im Blutserum, aus welchem das Eiweiss des Harns stammt, mehrere Albumine enthalten.

Nach Halliburton[2]) kommen dem vom Globulin vollständig befreiten Serum drei verschiedene Koagulationspunkte zu. — Es koaguliert bei 73°, 77° und 84°. Halliburton bezeichnet diese drei Arten als α-, β- und γ-Albumin. Das bei 73° gerinnende ist in grösster, das bei 84° gerinnende in geringster Menge vorhanden. Beim Ochsen, Schaf und Pferd, welche zu den Ungulaten gehören, fehlt das α-Albumin, beim Kaninchen, Menschen, Affen, Schwein, beim Hund und der Katze ist es vorhanden. Corin und Ansiaux bewirkten eine Trennung des im Rindsblutserum enthaltenen Albumin dadurch, dass sie beim Beginn einer Trübung die Temperatur konstant hielten, die sich danach abscheidenden Flocken abfiltrierten und in Wasser lösten (vgl. S. 1086). Diese Koagulation wurde mit den einzelnen Fraktionen wiederholt. Es ergab sich, dass das β-Albumin bei 73—74°, das γ-Albumin bei 79—80° koagulierte, wenn das Globulin durch Magnesiumsulfat abgeschieden war; in Gegenwart von Ammonsulfat lagen die Koagulationspunkte um einige Grade tiefer. — Reale[3]) unterscheidet ein Euserumalbumin (Koag.-Temp. 72°) und ein Pseudoserumalbumin (Koag.-Temp. 84°).

Die Erfahrungen beim Aussalzen sprechen auch für die Existenz mehrerer Serumalbumine. Nach Oppenheimer[4]), der ältere Versuche von Kauder erweiterte, lassen sich zwei Fraktionen gewinnen, von denen die eine bei 66²/₃% Sättigung fällbar ist, die andere dagegen nicht fällbar. Beide Fraktionen sind durch eine freie Zone voneinander geschieden. Gürber gelang es, aus Pferdeblutserum neben amorphem Albumin krystallisierendes Albumin abzuscheiden.

Gürber hat im Verein mit seinen Schülern Michel und Meyer[5]) aus Pferdeblutserum durch fraktionierte Fällung mit Ammonsulfat zwei solche Albu-

[1]) Lichtwitz u. O. Rosenbach, Zeitschr. f. physiol. Ch. **61**. 112. 1909. **64**. 144. **72**. 215. S. auch Lichtwitz, Diss. Göttingen 1909.

[2]) W. D. Halliburton, Journ. of Physiol. **5**. 158 u. 192. 1884.

[3]) E. Reale, Nuova rivista clin. terap. 1906.

[4]) C. Oppenheimer, Arch. f. Physiol. 1903. 201. — G. Kauder, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. **20**. 411. 1886.

[5]) A. Gürber, Sitzungsber. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg 1894. 143. — A. Michel, Zur Kenntnis der Gürberschen Serum-Albumin-Krystalle. Nebst einem Nachtrag von Gürber. Würzburg, Stahelsche Buchh. 1895; Verhandl. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg [2] **29**. 117; Jahresber. f. Tierch. 1895; 11; Chem. Zentralbl. 1896. **1**. 759; Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1896. 152; Zentralbl. f. Physiol. **10**. 41. — G. Meyer, Weitere Beiträge zur Kenntnis der Krystallisation des Serumeiweisses. Diss. Würzburg, Scheiner, 1896. — Fr. N. Schulz, Die Krystallisation von Eiweissstoffen und ihre Bedeutung für die Eiweisschemie. Jena, Verlag Gustav Fischer. 1901. — A. Wichmann, Zeitschr. f. physiol. Ch. **27**. 575. 1899.

Digitized by Google

mine dargestellt, von denen das eine (Fraktion I) in bis 1 mm grossen, positiv doppelbrechenden, sechsseitigen Prismen krystallisiert, welche an dem einen Ende eine sechsseitige Pyramide tragen, am anderen aber abgerundet oder flach begrenzt sind. Dieses Albumin koaguliert in wässeriger Lösung bei 51—53°, in 0,6 %iger Kochsalzösung bei 64° und besitzt die spezifische Drehung von $[\alpha]_D =$ —61,0 bis —61,2°. Die Fraktion II krystallisiert in rechtwinkligen Tafeln. Zwei andere in Nadeln krystallisierende Albumine (Fraktion III und IV) erwiesen sich als Produkte der Einwirkung des Ammonsulfats auf das Albumin der Fraktion I. Das der Fraktion III koaguliert bei 56—58° und hat $[\alpha]_D =$ —64°. — Nach den Untersuchungen von Schulz und von Wichmann handelt es sich aber beim krystallisierten Serumalbumin um ein einheitliches Präparat, soweit sich das überhaupt für Eiweissstoffe feststellen lässt.

Nur das Serum vom Pferd liefert leicht krystallisierendes Albumin, das vom Ochsen, Hammel, Schwein, vom Hund, Kaninchen und von der Katze dagegen nicht. Auch das Serum vom Pferd gab nicht immer krystallisierendes Albumin, sondern nur das von ganz gesunden Tieren, deren Serum mehr Albumin als Globulin enthielt; aus Serum mit mehr Globulin als Albumin konnten die Krystalle nicht erhalten werden. Durch Zusatz von Säure (Schwefelsäure) lässt sich aus Pferdeblut mit Ammonsulfat stets wenn auch in wechselnder Ausbeute krystallisiertes Albumin gewinnen. Auch aus Kaninchenserum kann man nach der „Säuremethode" mit einiger Sicherheit Albuminkrystalle gewinnen (Krieger, Inagaki). — Gruzewska [1]) erhielt durch längeres Abkühlen von Oxalatplasma, das mit dem gleichen Volum konzentrierter Ammonsulfatlösung versetzt war, auf —1° auch Krystalle bei Meerschwein, Katze, Ochs, Natter.

Die bisher vorliegenden Beobachtungen genügen nicht, um die Existenz mehrerer Serumalbumine sicher zu beweisen.

Bei eiweisshaltigem Harn schwankt die Koagulationstemperatur nach Gerhardt zwischen 56 und 81°, nach Lauder Brunton und d'Arcy Power [2]) zwischen 55,6 und 82,2°. Welche von den möglichen Einflüssen dabei im Spiele sind, ist nicht bekannt. Die niedersten Temperaturen sind aber wohl auf die Gegenwart eines Globulins zu beziehen.

Die hier angeführten Eigenschaften des Albumins beziehen sich auf das native oder auf solches, welches durch Neutralsalze vom Globulin getrennt und durch Dialyse vom Salz befreit war.

Der Körper heisst Albumin und nicht Albumen, wie man öfter zu sagen beliebt; Albumen bedeutet das Weisse im Ei, ist also ein anatomischer, kein chemischer Begriff.

1. Das durch Verdunsten einer Albuminlösung bei niederer Temperatur (bei 40° oder im trockenen Vakuum) erhaltene Albumin stellt eine spröde, schwach durchscheinende, von Beimengungen gelbe Masse dar.

2. In kaltem Wasser oder in Wasser von 40—50° löst sich das Albumin zu einer klaren, etwas klebenden, leicht filtrierenden Flüssigkeit. Die Lösung erfolgt leichter, wenn man das trockene Eiweiss

[1]) H. Th. Krieger, Diss. Strassburg 1899. — J. Inagaki, Verhandl. d. physik.-med. Gesellsch. in Würzburg. N. F. 38. Nr. 1. 175. 1905. — S. Gruzewska, C. r. de l'Acad. des sciences **128**. 1535. 1899.

[2]) C. Gerhardt, Archiv f. klin. Med. **5**. 214. — Lauder Brunton und d'Arcy Power, St. Bartholomews Hosp. Reports **13**. 283.

Digitized by Google

zunächst mit wenig Wasser zu einem dicken Brei verreibt und erst dann allmählich mehr Wasser zusetzt (Schulz). In Alkohol ist das Serumalbumin unlöslich. Versetzt man eine Albuminlösung reichlich mit Alkohol, so entsteht ein flockiger Niederschlag, der sich im Wasser wieder löst, wenn er bald aus der alkoholischen Flüssigkeit entfernt wird, dagegen nur zum Teil oder fast gar nicht, wenn er längere Zeit unter Alkohol aufbewahrt wird. Unter schwachem Alkohol wird das Albumin nach Hammarsten[1]) vollständiger unlöslich als unter starkem.

3. Über das Verhalten des Albumins zu Salzen vgl. S. 1086.

4. Albumin diffundiert sehr schwer, doch, nach Gottwalt[2]), leichter als Globulin.

5 Die spezifische Drehung des (menschlichen) Albumins ist von Starke[3]) bestimmt worden zu $[\alpha]_D = -62{,}6$ bis $-64{,}59^0$.

Das Albumin war aus Ascitesflüssigkeit oder Hydrocele dargestellt. Für Albumin aus Pferdeblutserum fand Starke $[\alpha]_D = -60{,}05^0$. für solches aus Rindsblutserum Sebelien[4]) $[\alpha]_D = -60{,}1$ und $62{,}6^0$. Das Albumin aus Pferdeblut besass nach Analysen von Hammarsten eine etwas andere Zusammensetzung als das aus den serösen Flüssigkeiten des Menschen und enthielt namentlich weniger Schwefel (1,80 % gegen 2,28 %). Vgl. Gürber S. 1101.

6. Eine in passender Weise angesäuerte Albuminlösung scheidet in der Wärme unter Abnahme der sauren Reaktion das Eiweiss in Flocken aus. Die Koagulationstemperatur hängt von verschiedenen Umständen ab; bei natürlichen Eiweisslösungen liegt sie in der Hauptsache bei 72—73⁰. Vgl. Halliburton, S. 1101.

Eine durch Diffusion möglichst salzarm gemachte Albuminlösung gerinnt bei einer verhältnismässig niederen Temperatur (Haas), etwa 50° (Starke[5]). Ganz salzfreie Serumalbuminlösung gerinnt dagegen nicht beim Erhitzen (Erb).

Durch Zusatz von Chlornatrium steigt nach Starke sowie Gürber (S. 1101) die Gerinnungstemperatur und bei einem Gehalt der Flüssigkeit an Chlornatrium von 5 % tritt die Koagulation nach Starke erst bei etwa 75—80° ein. Gleiches gilt nach Corin und Ansiaux (S. 1086) vom Magnesiumsulfat. Der Harnstoff erhöht nach Lauder Brunton, d'Arcy Power und Spiro die Gerinnungstemperatur; ebenso wirken mehrwertige Alkohole der Fettreihe, wie Glycerin, Mannit, Traubenzucker, Dextrin (Spiro). Vermutlich unter Bildung von Alkalialbuminat wirken gerinnungshemmend organische Basen (Spiro). Methylalkohol und Äthylalkohol setzen die Koagulationstemperatur herab. Sättigen einer Albuminlösung mit Neutralsalz hat nur einen geringfügig erhöhenden (bei Natriumsulfat) oder vermindernden (bei Natrium- und Kaliumnitrit) Einfluss auf die Gerinnungstemperatur (Halliburton)[6]). Ein steigender Gehalt der Lösung an Albumin

[1]) Hammarsten, Zeitsch. f. physiol. Ch. **6**. 222. 1882.

[2]) E. Gottwalt, Zeitschr. f. physiol. Ch. **4**. 423. 1880.

[3]) K. V. Starke, Jahresber. f. Tierch. 1881. 17. — W. Erb, Zeitschr. f. Biol. **41**. 309. 1901.

[4]) J. Sebelien, Zeitschr. f. physiol. Ch. **9**. 459. 1885.

[5]) Starke, l. c. — Erb, l. c.

[6]) K. Spiro, Zeitschr. f. physiol. Ch. **30**. 182. 1900. — W. D. Halliburton, Journ. of Physiol. **5**. 158 u. 192. 1884. — K. Spiro, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **4**. 300. 1904.

Digitized by Google

setzt nach Starke die Koagulationstemperatur herab. In nicht hinlänglich sauren Flüssigkeiten liegt die Gerinnungstemperatur höher, in zu stark sauren niederer als bei richtigem Säuregehalt.

Bevor sich das Albumin bei der Koagulation in Flocken abscheidet, trübt sich die Flüssigkeit, zuerst zwischen 60 und 65°; bei den in höherer Temperatur gerinnenden Albuminen tritt die Trübung 1—2° vor dem Koagulationspunkt ein. Erhitzt man eine mit Ammonsulfat gesättigte Albuminlösung einige Zeit in strömendem Dampf, so löst sich das Albumin auch nach Entfernung der Salzlösung nach Devoto [1]) nicht mehr in Wasser, gleichgültig welche Reaktion die Lösung vor dem Salzzusatz besass.

7. Das Albumin wird durch Alkalihydrate oder alkalisch reagierende Salze (Alkalicarbonat oder normales und einfach saures Alkaliphosphat), sowie durch Säuren angegriffen, um so schneller, je mehr Reagens zugegen und je höher die Temperatur ist. Dieses Verhalten des Albumins ist für den Nachweis und die Abscheidung des Albumins, und da sich das Globulin dem Eiweiss ganz gleich verhält, des Eiweisses überhaupt von Wichtigkeit.

a) Das Albumin wird durch Alkalihydrat oder alkalisch reagierendes Salz unter Abspaltung von NH_3 und SH_2 zu Albuminat (früher als Protein bezeichnet) verwandelt. Da dieses in Wasser und namentlich in salzhaltigem Wasser viel schwerer löslich ist als das Albumin, so erhält man aus konzentrierten und besonders aus salzreichen Albuminlösungen trübe, bei geringerer Konzentration mehr oder minder klare Flüssigkeiten. Entzieht man dem Albuminat durch Zusatz einer Säure alle Basis, so fällt das Albuminat in deutlichen Flocken innerhalb der wasserklaren Flüssigkeit aus. Ist das Albuminat aus reinem Albumin durch einen Überschuss von Alkalihydrat oder Alkalicarbonat erhalten worden, so wird die Flüssigkeit bei allmählichem vorsichtigem Zusatz von Säure neutral, bleibt aber in Gegenwart einer genügenden Menge Wasser klar, die Lösung enthält jetzt neutrales Albuminat. Bei weiterem Zusatz von Säuren trübt sich die Flüssigkeit milchig und nimmt saure Reaktion an, indem jetzt das schwerer lösliche saure Albuminat entsteht (Huppert); fährt man mit dem Zusetzen von Säure fort, so scheidet sich endlich das völlig in Freiheit gesetzte Albuminat aus wieder neutral und klar gewordener Flüssigkeit in Flocken ab. Fügt man noch einen Überschuss an Säure hinzu, so geht nun Acidalbumin mit saurer Reaktion in Lösung.

Bei der Fällung des Albuminats verhalten sich nach einer von Huppert ausgeführten Untersuchung alle als Reagentien gebräuchlichen Säuren gleich, es wird von jeder das zur Basenbindung erforderliche Äquivalent verbraucht. Dagegen findet bei der Lösung des Albuminats ein Unterschied zwischen den Mineralsäuren und der Essigsäure statt; von den Mineralsäuren braucht man nämlich zur Lösung gleicher Mengen Albuminat gleiche Moleküle, wobei die Salzsäure und die Salpetersäure normales, die Schwefelsäure saures Salz bilden, von der Essigsäure ist dagegen zur Erzielung einer Lösung eine viel grössere als die einer Mineralsäure äquivalente Menge erforderlich. Kommt es darauf an, aus einer Albuminatlösung das Protein mittelst einer Säure möglichst vollständig abzuscheiden, so bedient man sich daher dazu besser der Essigsäure als einer Mineralsäure, weil man bei Verwendung von Essigsäure weniger Gefahr läuft, durch einen Überschuss an Säure Albuminat wieder in Lösung zu bringen, als bei Anwendung einer Mineralsäure. Das zweifach saure Phosphat fällt das Albuminat wie eine Säure, unterscheidet sich von diesen jedoch dadurch, dass es das Albuminat im Überschuss nicht merklich wieder löst. Mit fortschreitender Einwirkung des Alkali entstehen primäre Albumosen, sekundäre Albumosen, Peptone (Maas) [2]). Es nimmt also nach Erreichen eines Optimum die

[1]) Devoto, Zeitschr. f. physiol. Ch. **15**. 465. 1891.
[2]) O. Maas, Zeitschr. f. physiol. Ch. **30**. 61. 1900.

Digitized by Google

erhaltbare Menge von Albuminat wieder ab. Wie Alkalien können auch organische Basen wirken.

b) Diese Verhältnisse erleiden eine Abänderung bei gleichzeitiger Gegenwart von Phosphaten. Normales und einfach saures Phosphat hält Albuminat in Lösung; eine solche Phosphate enthaltende Albuminatlösung kann erst dann einen Albuminatniederschlag geben, wenn diese Phosphate durch Zusatz von Säure in zweifach saures Phosphat verwandelt sind. Nach Soyka beginnt die Fällung des Albuminats, wenn 0,9 der gesamten Phosphorsäure in zweifach saures Phosphat übergeführt ist und ist vollständig, wenn die Flüssigkeit nur zweifach saures Phosphat enthält. Die Fällung des Albuminats erfolgt bei Gegenwart von Phosphat demnach unter ganz denselben Bedingungen, wie die Fällung des Albumins aus seiner mit Magnesiumsulfat gesättigten Lösung. Eine Lösung mit 0,9 Mol. zweifach- und 0,1 Mol. einfach saurem Phosphat reagiert aber sauer. Bei Gegenwart von Phosphat in einer Albuminatlösung fällt also das Albuminat erst aus, wenn die Flüssigkeit saure Reaktion angenommen hat. Durch Zusatz von Neutralsalzen zu einem durch Hitze ganz unkoagulierbaren Laugeneiweiss kann die Hitzegerinnbarkeit mehr oder weniger restituiert werden (Pauly und Handowsky)[1]).

c) Natürliche Eiweisslösungen, wie das Serum, enthalten alkalisch reagierende Salze in genügender Menge, um alles Albumin (und Globulin) beim Kochen in Albuminat überzuführen. Ist die seröse Flüssigkeit hinlänglich verdünnt, so erscheint sie fast klar. Auf Zusatz von Säure tritt dann zunächst gleichmässige Trübung ein, darauf Abscheidung des Albuminats in Flocken. Wenn die Fällung vollendet ist, besitzt die Flüssigkeit wegen ihres Gehalts an Phosphat saure Reaktion. Selbstverständlich kann man aus einer Eiweisslösung beim Kochen sofort einen flockigen Niederschlag in wasserklarer Flüssigkeit erhalten, wenn man die Lösung vor dem Erhitzen entsprechend ansäuert. Nur findet zwischen dem vorläufigen und dem nachträglichen Ansäuern insofern ein Unterschied statt, als sich, wie Huppert fand, zweifach saures Phosphat enthaltende Albuminatlösungen herstellen lassen, welche nicht schon in der Kälte, wohl aber erst beim Kochen einen flockigen Niederschlag von koaguliertem Eiweiss geben.

Von einer serösen Flüssigkeit unterscheidet sich eiweisshaltiger Harn bei saurer Reaktion nur dadurch, dass in ihm das zweifach saure Phosphat überwiegt, ohne dass er ganz frei von einfach saurem Phosphat zu sein braucht. Ein eiweisshaltiger Harn von saurer Reaktion kann also beim Kochen sogleich einen flockigen Niederschlag in wasserklarer Flüssigkeit geben, ohne dass jedoch deshalb alles Eiweiss gefällt sein muss.

d) Kocht man in der Kälte gefälltes Albuminat, so schrumpfen die Flocken auf ein viel kleineres Volumen ein und sind nun, in der Kälte, in Basen oder in Säuren nicht mehr so leicht löslich als vorher. Von derselben Beschaffenheit ist das durch Kochen einer passend angesäuerten Eiweisslösung direkt erhaltene koagulierte Protein.

8. Durch Einwirkung von Säuren entsteht aus Albumin Acidalbumin. Dieses ist in einem Überschuss der konzentrierten gewöhnlichen Mineralsäuren (Salzsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure), sowie in Neutralsalzlösungen (Panum)[2]) unlöslich, dagegen in Essigsäure gewöhnlicher Konzentration löslich.

Daher gibt eine Albuminlösung, wenn sie mit einer der gewöhnlichen Mineralsäuren in einem gewissen Überschuss versetzt wird, einen Niederschlag, mit Essigsäure aber nicht. Nicht alle Mineralsäuren fällen das Protein (Albumin) gleich

[1]) Soyka, Pflügers Archiv 12. 351. 1876. — W. Pauly u. H. Handowsky, Biochem. Zeitschr. 24. 239. 1910.

[2]) P. Panum, Virchows Archiv 4. 428. 1852.

Digitized by Google

gut; von der Salzsäure ist am meisten erforderlich, um den Niederschlag von Acidalbumin zu erzeugen, von der Salpetersäure braucht man dagegen nach Molekülen am wenigsten (Huppert). Die Salpetersäure fällt daher das Albumin am besten. Das gefällte Acidalbumin löst sich in viel Wasser, ebenso in einem sehr grossen Überschuss der Säure wieder auf, in der Wärme leichter als in der Kälte.

Serumalbumin ist gegen Säure viel widerstandsfähiger wie Eieralbumin. 0,25 %ige HCl oder 2 %ige HC_3.COOH bildet bei Zimmertemperatur überhaupt kein Acidalbumin (kein Neutralisationsniederschlag), bei 40° erst nach 14 Tagen. 2 %ige HCl bildet bei gewöhnlicher Temperatur erst nach 14 Tagen, 14—15 %ige HCl bei 40° erst nach vielen Stunden Acidalbumin (Goldschmidt). Bei höherer Temperatur (Siedetemperatur) geht die Umwandlung wesentlich rascher vor sich. Bei andauernder Säurewirkung entstehen Albumosen, Peptone, Kyrine. Das gebildete Acidalbumin ist durch Neutralsalze sehr leicht fällbar (Umber[1])).

Auch durch Phenol wird das Eiweiss gefällt, während aber natürliche Eiweisslösungen nur mit nahezu gesättigter wässeriger Phenollösung Niederschläge geben und zwar wie es nach Zapolsky[2]) scheint nicht mit dem Albumin, sondern mit den in jenen enthaltenen Globulinen, wird eine natürliche Eiweisslösung bei Gegenwart von Essigsäure auch durch wenig Phenol gefällt.

B. Nachweis. Für klinische Zwecke nimmt man beim Aufsuchen von Albumin auf das gleichzeitig vorhandene Globulin, da beide vielfach die gleichen Reaktionen geben, zumeist keine Rücksicht. Die im folgenden zunächst angeführten Proben für den Nachweis von Eiweiss im Harn beziehen sich daher auf ein Gemisch beider Substanzen. Von den aufgezählten Reaktionen zeigen die sehr empfindlichen auch die im normalen Harn enthaltenen Spuren an.

Für den Nachweis geringer Mengen Eiweiss soll der Harn klar sein; sicher klar erhält man ihn beim Filtrieren durch Asbest oder Kieselgur.

1. Fällen als koaguliertes Eiweiss (Kochprobe). a) Allgemeine Vorschrift. Handelt es sich um den Nachweis nicht minimaler Spuren von Eiweiss im Harn, so erhitzt man etwa 10 ccm Harn im Reagenzglas bis zum Sieden und versetzt dann, gleichgültig ob während des Kochens ein Niederschlag entstanden ist oder nicht, mit Salpetersäure bis zur stark sauren Reaktion, wozu man in gewöhnlichen Fällen etwa 10—20 Tropfen einer 25%igen Salpetersäure braucht. Zeigt der Harn danach einen flockigen Niederschlag, so darf die Gegenwart von Eiweiss als erwiesen betrachtet werden.

Eiweisshaltiger Harn kann allerdings und wird in den meisten Fällen beim Kochen für sich einen Niederschlag geben, welcher aus koaguliertem Eiweiss besteht. Aber nicht jeder Harn, welcher beim Kochen für sich einen Niederschlag gibt, enthält Eiweiss. Schwach alkalischer oder amphoterer Harn kann beim Kochen einen Niederschlag von normalem Kalkphosphat (vgl. S. 120) liefern, der ebenso flockig ist, wie ein Eiweissniederschlag und sich in seinem Aussehen durchaus nicht von Eiweiss unterscheidet. Einen Phosphatniederschlag erkennt man aber an seiner Löslichkeit in Säuren als solchen und wählt zu dieser Prüfung konzentrierte

[1]) Goldschmidt, Diss. Strassburg 1898. — F. Umber, Zeitschr. f. physiol. Ch. 25. 258. 1898.

[2]) N. Zapolsky, Hoppe-Seylers med. chem. Untersuchungen. 1871. 557.

Digitized by Google

Salpetersäure, weil ein mässiger Überschuss von dieser einen Albuminniederschlag ungelöst lässt. Die Salpetersäure ist also der Essigsäure vorzuziehen. Auch kann die Auflösung der Phosphate durch Essigsäure unvollständig sein, indem sich ein in Essigsäure bei Siedetemperatur unlösliches Dicalciumphosphat bildet (de Jager). — Siebold[1] empfahl zunächst mit NH_3 die Phosphate zu fällen und das wieder angesäuerte Filtrat zur Kochprobe zu verwenden.

Im alkalischen Harn enthaltenes Eiweiss wird für gewöhnlich beim Kochen nicht als Albuminat in Lösung bleiben, weil das Albuminat beim Kochen als Kalk- und Magnesiaverbindung ausfallen würde. Fehlen einem Harn die Erdphosphate, so kann bei alkalischer Reaktion die Fällung beim Kochen ausbleiben. De Jager beobachtete das bei einer Gravida mit Urämie, der Ca-Lactat verabreicht war.

Ein solcher Harn koaguliert sowohl bei Zusatz von Chlorcalciumlösung, als auch beim Ansäuern. Entfernt man aus dem Harn das Ca durch Zusatz von Kaliumoxalat, so tritt im Filtrat beim Kochen nur dann Koagulation ein, wenn primäres Phosphat (zweifach saures) oder freie Säure vorhanden ist; ist nur sekundäres Phosphat zugegen, so koaguliert Ca-freier Harn nicht (de Jager)[2].

In einem mit etwas Säure, namentlich Essigsäure, versetzten Harn kann dagegen Eiweiss beim Kochen in Lösung bleiben. In beiden Fällen wird es durch Salpetersäure niedergeschlagen.

Die mucinartige Substanz des Harns, welche auch als Begleiterin des Eiweisses auftritt, scheidet sich auf Zusatz von Essigsäure zu dem kalten Harne als homogene Trübung, aus dem noch heissen Harn als stärkere Trübung oder in Flocken aus, wird aber durch Salpetersäure (oder andere Mineralsäuren) in Lösung erhalten.

Es muss ausdrücklich davor gewarnt werden, dem Harn vor dem Kochen Säure zuzusetzen, falls derselbe nicht durch Zersetzung abnorme alkalische Reaktion angenommen hatte, die natürlich durch vorsichtige Neutralisation beseitigt werden muss. Falscher Säurezusatz kann beträchtliche Eiweissmengen der Hitzekoagulation entziehen (siehe auch Schweissinger)[3].

Setzt man einem schwach eiweisshaltigen Harn, der beim Kochen klar geblieben ist, die Salpetersäure nur tropfenweise zu, so verschwindet der Niederschlag anfangs wieder beim Umschütteln der Flüssigkeit, oder es braucht anfangs auch gar kein Niederschlag zu entstehen. Jeder Eiweissharn zeigt diese Erscheinung, wenn man ihn mit dem fünffachen Volumen Wasser verdünnt hat. Ein Niederschlag tritt dagegen auf, entweder wenn der Harn so reich an Salzen ist, dass das gebildete Acidalbumin nicht in Lösung gehen kann, oder wenn die Flüssigkeit mit so viel Salpetersäure versetzt wird, dass das Acidalbumin nun in der Säure unlöslich ist.

Setzt man zu künstlich konzentriertem Harn Eiweiss, so fällt die Kochprobe intensiver aus, als im Vergleichsharn; ist der Harn sehr stark eingeengt, so bleibt die Kochprobe negativ (Hallauer)[4], hemmende Wirkung des Harnstoffs.

Bei der Verwendung dieser Eiweissprobe können kleine Mengen Albumin dem Nachweis entgehen, weil sich auch das koagulierte Albumin in der heissen Salpetersäure unter Zersetzung teilweise löst. Man muss sich daher vollends hüten, den Harn nach dem Zusatz der Salpetersäure noch weiter zu kochen oder ihn schon vor dem Kochen mit Salpetersäure zu versetzen.

---

[1]) Siebold, Zeitschr. f. analyt. Ch. **13**. 248.
[2]) L. de Jager, Zeitschr. f. physiol. Ch. **62**. 333. 1909. — S. auch Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. 1909. II. 466.
[3]) Schweissinger, Münch. med. Wochenschr. **51**. 1172. 1904.
[4]) Hallauer, Münch. med. Wochenschr. **50**. 1539. 1903.

Digitized by Google

Bei der Untersuchung des Harns nach der in Rede stehenden Methode werden ausgeschlossen: der im normalen Harn enthaltene mucinähnliche Körper, weil er durch den starken Zusatz von Salpetersäure in Lösung erhalten wird, und die Albumosen, weil sie wenigstens so lange im Harn gelöst bleiben, als derselbe noch heiss ist.

Dagegen können nach diesem Verfahren im Harn Niederschläge auftreten, die nicht aus Eiweiss bestehen: Harnsäure oder harnsaure Salze im konzentrierten normalen Harn (Säugetierharne sind im allgemeinen sehr konzentriert), und eigentümliche unlösliche Säuren (Harzsäuren) nach innerlicher oder äusserer Anwendung von Harzen (Terpentin, Benzoe), Balsamen (Copaiva-, Peru-, Tolubalsam, Cubeben, Storax, Santelholzöl), Petroleum. Auch Gallenfarbstoff kann, worauf Grocco [1]) aufmerksam macht, aus stark ikterischen Harnen ausfallen. Bei sehr harnstoffreichen Tierharnen kann auch salpetersaurer Harnstoff auskrystallisieren. Diese Niederschläge lassen sich jedoch vom Eiweiss unterscheiden.

α) Die Harnsäure und die harnsauren Salze fallen, wenn sie es überhaupt tun, aus dem Harn meist als gefärbte Pulver aus; man braucht also nur dann an der Gegenwart von Albumin zu zweifeln, wenn der Niederschlag nicht flockig ist. Um sich zu versichern, ob der Niederschlag aus Eiweiss besteht, filtriert man ihn ab und unterwirft ihn einer der Farbenreaktionen (S. 1089), am besten der Biuretreaktion, oder der Probe von Adamkiewicz, oder versucht ihn in warmer Essigsäure zu lösen und prüft die Lösung mit Ferrocyankalium auf Eiweiss. Verdünnen des Harns auf das drei- oder vierfache Volumen vor der Probe kann die Ausscheidung der Harnsäure hintanhalten. Da es sich aber in diesen zweifelhaften Fällen nur um sehr geringe Mengen von Eiweiss handeln kann, so prüft man zweckmässig eine neue Probe mit Ferrocyanwasserstoff (Seite 1112), nach Heller (Seite 1110), oder einer der anderen schärferen Eiweissproben.

β) Die organischen Säuren (Harzsäuren), welche statt oder neben Eiweiss aus Harn ausfallen können, unterscheiden sich vom koagulierten Albumin durch ihre Löslichkeit in Alkohol. Nach Alexander ist diese Unterscheidung aber nicht zuverlässig, da auch gefälltes Acidalbumin in Alkohol unter gewissen Umständen ganz klar löslich ist. — Versetzt man den Harn nach dem Kochen mit $^1/_3$ Vol. Salpetersäure, so rührt nach Alexander [2]) eine Trübung nur von Eiweiss her, die Harzsäuren bleiben in Lösung.

γ) Der aus ikterischem Harn ausfallende Gallenfarbstoff besteht vorwiegend aus Biliverdin, und dieses ist in Alkohol löslich.

δ) Der salpetersaure Harnstoff charakterisiert sich durch seine Krystallform. Wiederholen der Probe nach dem Verdünnen mit Wasser (1:1) zeigt, dass es sich nicht um Eiweisskoagulation handelt.

b) Modifikationen der Kochprobe.

α) Mit Essigsäurezusatz. Man erhitzt ca. 10 ccm Harn zum Sieden und setzt dann 2—3 Tropfen 25%iger Essigsäure hinzu. Für die Verwendung ausserhalb eines Laboratoriums wäre die Essigsäure viel angenehmer. Die Probe mit Essigsäure ist aber nicht so zuverlässig, wie die mit Salpetersäure. Ein Überschuss von Essigsäure löst das Eiweiss sehr leicht wieder auf, namentlich wenn das Kochen bei alkalischer Reaktion stattgefunden hat (siehe vorher). Auch ist das

[1]) Grocco, Rev. gener. ital. di clin. med. 1891; Zentralbl. f. klin. Med. **13**. 1892.

[2]) C. Alexander, Deutsche med. Wochenschr. **14**. 323. 1892; Zeitschr. f. analyt. Ch. **33**. 121.

Digitized by Google

Mucin in Essigsäure nicht löslich; es kann also eine Mucintrübung Eiweiss vortäuschen.

Manche pathologische Harne geben trotz erheblichem Eiweissgehalt (0,32 bis 0,35 %) beim Aufkochen unter Zusatz von Essigsäure keine Eiweissfällung. Nach Sättigen mit schwefelsaurem Natrium scheiden aber auch diese Harne das Eiweiss vollständig ab (Delannay)[1]).

β) Mit Salzzusatz. Die Koagulation wird begünstigt durch einen höheren Salzgehalt. Auch wird etwa beim Kochen entstehendes Albuminat oder Acidalbumin bei einem höheren Salzgehalt nicht in Lösung gehalten, sondern gefällt. Bei dünnen Harnen mit geringem Eiweissgehalt ist daher die Gefahr, dass Eiweiss übersehen wird, am beträchtlichsten. Es ist daher in zweifelhaften Fällen sicher ein Zusatz konzentrierter Salzlösung empfehlenswert.

Man versetzt 10 ccm Harn mit einigen ccm konzentrierter NaCl-Lösung und verfährt im übrigen wie oben. Auch andere Neutralsalze können benutzt werden (Na-Sulfat, Ammoniumsulfat). Dufau empfiehlt 10 ccm Harn mit 1 ccm einer Lösung von 250 g Natriumcitrat und 50 g 90%igem Alkohol in Wasser zu einem Liter aufgefüllt zu kochen.

γ) Neuerdings mehrfach empfohlen (Bychowsk u. a.)[2]), aber schon länger bekannt ist folgendes Verfahren: Man erhitzt 10 ccm destilliertes Wasser zum Sieden und lässt einen Tropfen Harn hereinfallen. Es entsteht um den fallenden Tropfen eine leichte Opalescenz, die an Zigarrenrauch erinnert.

δ) Nach de Jager[3]): 10 ccm unfiltrierter Harn werden mit etwa 1 ccm 20%iger Kaliumoxalatlösung versetzt und nach einigen Minuten durch doppeltes Filter filtriert. Oftmals ist ein klares Filtrat nur nach wiederholtem Filtrieren zu erhalten. Die filtrierte Flüssigkeit wird zum Sieden erhitzt. Entsteht ein Niederschlag, so ist mit Gewissheit Eiweiss anwesend. — Eine zweite Probe des Filtrates wird nach Zusatz von 2—3 Tropfen verdünnter Essigsäure gekocht. Bleibt der Harn klar, so ist gewiss kein Eiweiss vorhanden.

Bei einem Eiweissgehalt von 0,05 g im Liter ergab sich ein geringer Niederschlag, bei 0,06 g im Liter ein deutlicher Niederschlag.

Die theoretische Begründung dieser Modifikation s. vorher S. 1107 Absatz 3.

Siebold[4]) empfahl den Harn mit NH_3 stark zu alkalisieren, dann die Phosphate abzufiltrieren und im mit Essigsäure angesäuerten Filtrat die Kochprobe anzustellen.

ε) Ein praktisch auch von anderen schon verwandter Kunstgriff besteht darin, dass man das Reagenzglas zu etwa $^2/_3$ mit filtriertem Harn füllt, dann an der Kuppe das Reagenzglas anfasst und nunmehr nur das obere Drittel des Harns

[1]) R. Delannay, J. Pharm. Chim. [6] 9. 100. 1899.

[2]) S. Zentralbl. f. d. Krankh. d. Harn- u. Sexualorgane 14. 235. 1903. — Bychowsk, Deutsche med. Wochenschr. 1902. 33.

[3]) l. c.

[4]) Siebold, Zeitschr. f. analyt. Ch. 13. 248. 18.

Digitized by Google

ins Sieden bringt. Man hat dann den unteren kalt gebliebenen Teil des Harns bequem zum Vergleich (Engels)[1].

Nach Henn[2]) ist die Kochprobe im normalen Hunde-, Pferde- und Rinderharn negativ.

2. Fällung als Acidalbumin.

a) Durch konzentrierte Salpetersäure (Hellersche Probe)[3]).

Man schichtet den Harn vorsichtig auf konzentrierte Salpetersäure, so dass sich die Flüssigkeiten nicht mischen. Enthält der Harn Albumin, so bildet sich an der Grenzschicht beider Flüssigkeiten eine nach oben und unten scharf begrenzte, ringförmige Trübung. Die Schichtung nimmt man am besten vor, indem man auf ein Reagenzglas, das 3—5 ccm starke Salpetersäure enthält, einen kleinen Trichter mit Filter setzt, das Reagenzglas möglichst stark neigt und nunmehr Harn langsam durch das Filter laufen lässt, so dass derselbe an der Wandung des Reagenzglases herabläuft, nicht aber frei heruntertropft. Man schichtet so ebenfalls 3—5 ccm Harn auf. Die Beobachtung der Trübung geschieht gegen einen dunklen Hintergrund.

L. Steiner[4]) hat für die Überschichtung einen besonderen Apparat angegeben, der aber wohl entbehrlich ist. Zwei in ihrem unteren Teile durch ein schräges Verbindungsröhrchen verbundene Reagiergläser werden so benutzt, dass man in das Reagierglas, in welchem die Verbindungsöffnung etwas höher liegt, Salpetersäure giesst, jedoch nur so viel, dass die Öffnung des Verbindungsrohrs nicht erreicht wird. Dann filtriert man Harn in das zweite Reagenzglas. Wenn das Reagenzglas sich stärker füllt, läuft Harn in das erste Reagenzglas über und schichtet sich auf die Salpetersäure.

Die Versuchsanordnung ist bei der Hellerschen Probe insofern günstig für das Gelingen des Albuminnachweises, als das Acidalbumin an der Stelle, wo es gebildet wurde, sogleich auf so viel Säure trifft, dass es unlöslich bleibt.

Die Probe ist empfindlich, es lassen sich mit ihr noch Spuren Eiweiss erkennen (25 mg im Liter nach Almén), doch entgehen im Harne nach Mörner (s. vorher) Mengen bis zu 78 mg im Liter dem Nachweis. De Jager fand bei einem Eiweissgehalt von 0,05 ‰ die Hellersche Probe negativ, bei 0,06 ‰ schwach positiv. Fast ausnahmslos zeigt der Harn nach Mörner[5]), auch wenn der Eiweissring in der Grenzschicht fehlt, eine 0,5—1 cm über dieser gelegene schwache ringförmige oder diffuse Trübung, die sich bisweilen auch gegen die Salpetersäure erstreckt. Sie rührt her von der mucinähnlichen Substanz und kann, in harnsäurereichen Harnen, auch herrühren von der Harnsäure. Verdünnt man den Harn vor der Probe mit 2—3 Vol. Wasser, so bleibt der Uratniederschlag aus, während die durch die mucinähnliche Substanz bedingte Trübung bestehen bleibt oder bisweilen selbst deutlicher hervortritt. Diese Niederschläge kommen durch das schwache Ansäuern des Harns zustande. Die diagnostische Bedeutung dieser Mucintrübung ist naturgemäss eine andere, wie die des typischen, an der Berührungsstelle liegenden, schmalen, scharf begrenzten Eiweissringes (Linossier)[6]).

[1]) Fr. Engels, Deutsche med. Wochenschr. **56**. 1330. 1909.
[2]) W. Henn, Zeitschr. f. Tiermed. **13**. 209. 1910.
[3]) Heller, Archiv f. physiol. u. pathol. Ch. u. Mikroskopie **5**. 169. 1852.
[4]) L. Steiner, Münch. med. Wochenschr. **56**. 1742. 1909.
[5]) K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv **6**. 402.
[6]) G. Linossier, Jahresber. f. Tierch. **27**. 735. 1897.

Digitized by Google

Durch die Probe werden auch die Albumosen und die Harzsäuren gefällt. — In sehr konzentrierten Harnen kann ein Niederschlag von salpetersaurem Harnstoff auftreten; derselbe ist im Gegensatz zum Harnsäureniederschlag deutlich krystallisiert und bleibt nach nur mässigem Verdünnen des Harns vor der Probe aus. — Die farbigen Ringe, welche neben dem Niederschlag auftreten, haben mit der Eiweissreaktion nichts zu tun. Zur Konservierung mit Thymol versetzte Harne geben bei der Hellerschen Probe einen ringförmigen Niederschlag, der mit Eiweiss verwechselt werden kann. Das Thymol lässt sich durch Schütteln mit dem gleichen Volum Petroläther (im Reagenzglas) entfernen (Weinberger)[1].

Sachs[2]) bringt auf einem Objektträger, der auf dunklem Grunde liegt, einen Tropfen Salpetersäure mit einem daneben liegenden Tropfen Harn zusammen. Bei stärkerem Eiweissgehalt bildet sich augenblicklich, bei schwächerem (unter 0,2 ‰) nach kurzer Zeit ein dichtweisser, grauer oder graublauer Schleier, der sich meist halbmondförmig über den Säuretropfen ausbreitet. Spuren bis 0,01 ‰ sind noch erkennbar.

Weiss empfiehlt bei der Hellerschen Probe den Harn mit dem 4—8 fachen Vol. Wasser zu verdünnen. Michel empfiehlt eine mit NH_4NO_3 gesättigte NO_3H, die durch ihr hohes spez. Gewicht die Schichtung erleichtert. — Schnitter[3]) empfiehlt allgemein bei Ringproben die spezifisch leichtere Flüssigkeit in eine Pipette einzusaugen, mit dem Finger abzuschliessen, dann die Pipette äusserlich zu reinigen und in die spezifisch schwerere Flüssigkeit einzutauchen. Beim Öffnen des Fingers treibt die einströmende schwerere Flüssigkeit die leichtere nach oben, wobei besonders schöne Ringbildung eintritt.

Nach Henn[4]) ist die Hellersche Probe im unverdünnten normalen Hundeharn positiv, also zur Diagnose kleiner abnormer Eiweissmengen unbrauchbar. Im künstlich konzentrierten Harn mit geringem Eiweisszusatz ist die Hellersche Probe negativ. Beim Verdünnen wird sie dann positiv. Konzentrierte Harne sind daher zu verdünnen (Hallauer)[5]).

b) Fällung durch Neutralsalze aus saurer Lösung. Dafür sind folgende Vorschriften vorhanden.

α) Versetzt man eine Eiweisslösung bezw. Harn mit Essigsäure bis zu stark saurer Reaktion und mit dem gleichen Volumen einer gesättigten Glaubersalzlösung (Panum, S. 1105) oder Magnesiumsulfatlösung oder mit mindestens so viel ($^1/_6$ Vol.) einer gesättigten Kochsalzlösung, dass das Gemisch 4% Kochsalzlösung enthält (Heynsius), so wird beim Kochen alles Eiweiss gefällt. Manche Harne geben mit Essigsäure + Kochsalz schon in der Kälte Eiweissfällungen (Salkowski)[6]).

Die Albumosen lösen sich in der heissen Flüssigkeit und der mucinähnliche Körper des normalen Harns wird nicht oder unvollständig niedergeschlagen. Nach Stokvis[7]) entsteht beim Kochen manchmal ein mehr oder minder deutlich flockiger Niederschlag, der kein Eiweiss ist, und aus Farbstoffen, auch Gallenfarbstoff bestehen kann.

[1]) W. Weinberger, Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. **6.** 4—7. 1909.
[2]) Fr. Sachs, Deutsche med. Wochenschr. **33.** 58. 1907.
[3]) H. Weiss, Diss. Erlangen 1910. (J. T. 30. 332). — Fr. Michel, Chemikerztg. **35.** 183. 1901. — Schnitter, Münchn. med. Wochenschr. **58.** 629. 1911.
[4]) W. Henn, Ztschr. f. Tiermed. **13.** 209. 1910.
[5]) Hallauer, Münchn. med. Wochenschr. **50.** 1539. 1903.
[6]) Heynsius, Pflügers Archiv **10.** 239. — E. Salkowski, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1880. Nr. 38.
[7]) Stokvis, Tijdschr. voor Geneesk., Bijl. 115. 1882; Virchow-Hirschs Jahresber. 1882. **1.** 170.

Digitized by Google

Im Pferdeharn bekommt man durch Essigsäure allein eine Mucintrübung (Eber, Henn) [1]), was diese Probe beeinträchtigt.

β) Roberts [2]) empfiehlt als Reagens auf Eiweiss im Harn eine mit 5% Salzsäure von 1,052 Dichte versetzte, gesättigte Kochsalzlösung, von welcher man dem Harn in der Kälte das gleiche Volumen hinzufügt.

Auch kann man den Harn auf die saure Salzlösung schichten, wonach be Anwesenheit von Eiweiss an der Berührungsfläche beider Flüssigkeiten ein Niederschlag auftritt. Die Reaktion ist nach Roberts so empfindlich wie die Hellersche Probe, hat vor dieser aber den Vorzug, dass der Harn nicht dunkler gefärbt wird und keinen Niederschlag von Harnsäure gibt. — Durch das Reagens werden auch die Albumosen und die Harzsäuren gefällt. — Hundeharn sowie oft Pferdeharn und Rinderharn reagieren auch normalerweise positiv (Henn).

Garrat [3]) bestätigt, dass die Probe sehr scharf ist.

γ) Ein anderes von Roberts [4]) angegebenes Reagens besteht aus einer Mischung von 1 Teil starker Salpetersäure und 5 Teilen gesättigter Bittersalzlösung. Es verhält sich wie die Mischung von Salzsäure und Kochsalz. Auch bei dieser Probe kann man den Harn auf die Salzlösung schichten. Nach Maguire ist die Probe sehr scharf.

Da auch das gebildete Acidalbumin in Alkohol löslich ist, so lassen sich die Harzsäuren von ihm, nicht so wie vom koagulierten Eiweiss, durch ihre Löslichkeit in Alkohol unterscheiden. Setzt man aber nach Roberts die Salzlösung dem Harn tropfenweise hinzu, so verschwindet die entstehende Trübung beim Umschütteln anfangs wieder, wenn sie aus Eiweiss besteht, während der von Harzsäuren herrührende Niederschlag dauernd ist und auf Zusatz von überschüssigem Harn nicht wieder verschwindet.

Alexander [5]) gibt noch folgende unterscheidende Reaktionen an. Auf Zusatz von 2—3 Tropfen Salzsäure zu 8—10 ccm Harn fallen nur die Harzsäuren; erhitzt man die Probe unter Zusatz von noch mehr Säure, so tritt bei Gegenwart von Harzsäuren Rotfärbung ein. Essigsäure fällt das Eiweiss nicht, aber die mucinähnliche Substanz und die Harzsäuren; die Säuren sind in überschüssiger Essigsäure löslich. Man kann auch die Harzsäuren aus dem mit viel Essigsäure versetzten Harn durch Schütteln mit Äther entfernen und die rückständige Flüssigkeit dann auf Eiweiss untersuchen.

Gallenfarbstoff löst sich, wie aus dem koagulierten Harn, in Alkohol mit grüner Farbe. Erweist sich der Gallenfarbstoff bei diesen Proben störend, so soll man nach Grocco den Harn nach Zusatz von 2—3 Vol. Essigsäure einige Stunden stehen lassen und ihn erst dann, wenn das Filtrat mit Essigsäure klar bleibt, auf Eiweiss untersuchen.

3. Fällung durch spezifische Reagentien.

a) Fällung durch Ferrocyanwasserstoff (S. 1088). Man versetzt den Harn reichlich mit Essigsäure und darauf mit einigen Tropfen Ferrocyankalium; bei Gegenwart von Eiweiss entsteht ein dichter, weisser Niederschlag (Hilger) [6]). Mit dieser Reaktion lassen sich noch Spuren Eiweiss auffinden.

---

[1]) Eber, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1886. 561. W. Henn l. c. 210.

[2]) Wm. Roberts, Lancet II. 15. 1882; Virchow-Hirschs Jahresber. 1882. 1. 169; Zeitschr. f. analyt. Ch. 22. 628; Chem. Zentralbl. 1883. 424.

[3]) J. M. Garrat, New York med. Journ. 1898.

[4]) Roberts, Chem. Zentralbl. 1885. 412. — Maguire, Lancet, June 1886. 1082; Virchow-Hirschs Jahresber. 1886. 1. 157.

[5]) C. Alexander, Deutsche med. Wochenschr. 14. 323. 1893; Zeitschr. f. analyt. Ch. 33. 121.

[6]) Hilger, Arch. d. Pharm. [3] 6. 388.

Digitized by Google

Ferrocyanwasserstoff (Essigsäure und Ferrocyankalium) fällt nur das Harnpepton (aus Neutralsalzlösung) und wahrscheinlich auch die reine Deuteroalbumose (Kutscher) nicht; die Niederschläge mit den Albumosen sind bei Gegenwart von überschüssiger Essigsäure in der Wärme löslich, ferner in Neutralsalzlösungen die Niederschläge der Prot- und der Deuteroalbumose.

Von den Eiweisskörpern geben nur noch die Albumosen und das Nucleoalbumin mit Ferrocyanwasserstoff auch Niederschläge; die Niederschläge der Albumosen lösen sich aber in viel Essigsäure, namentlich in der Wärme, sowie, mit Ausnahme des der Heteroalbumose, auch in Neutralsalzlösung (Chlornatrium, Ferrocyankalium).

Trübt sich der Harn auf Zusatz von Essigsäure allein, was bei Pferdeharn die Regel ist, so kann diese Trübung herrühren entweder von dem mucinähnlichen Körper des normalen Harns, was jedoch selten der Fall ist, oder von den mehrfach erwähnten Harzsäuren; diese lösen sich leicht in Alkohol. Von der mucinähnlichen Substanz befreit man den Harn, wenn man ihn unter Vermeidung eines Überschusses mit so viel essigsaurem Blei versetzt, dass ein flockiger Niederschlag entsteht. Das (bleifreie) Filtrat trübt sich mit Essigsäure nicht mehr, und die Prüfung mit Ferrocyankalium gibt ein unzweideutiges Resultat.

Reinste Ammoniumsalze geben mit Ferrocyanwasserstoff eine Trübung (Bardach)[1]). Verwendet man Kieselgur als Klärmittel, so geben die Filtrate auch häufig mit Ferrocyanwasserstoff Trübung durch gelöste Spuren von Eisen. Auch geringer Eisengehalt des Filtrierpapiers kann zu Trübungen Anlass geben (Bardach).

Auch Zink aus zum Auffangen des Harns benutzten Gefässen kann mit Ferrocyanwasserstoff eiweissähnliche Trübungen geben (Schmidt[2])).

Setzt man zu künstlich konzentriertem Harn Eiweiss, so ist die Probe mit Ferrocyanwasserstoff negativ, beim Verdünnen wird sie positiv; die phosphorsauren Salze sollen hemmend wirken (Hallauer)[3]).

Statt Essigsäure kann man zum Freimachen des Ferrocyanwasserstoffs auch Zitronensäure benutzen (Pavy).

Harnsäure kann bei der Essigsäure-Ferrocyankaliumprobe sich plötzlich als staubförmiger Niederschlag ausscheiden (Schweissinger)[4]).

In mit Bittersalz gesättigter Albuminlösung entsteht der Niederschlag nach Kowalewsky[5]) schwer.

b) An Stelle von Ferrocyankalium hat Mya[6]) das Nitroprussidnatrium vorgeschlagen.

c) Rhodankalium nach Zouchlos. Das Reagens besteht aus einer Mischung von 100 ccm 10%igem Rhodankalium mit 20 ccm Essigsäure. Von ihm setzt man dem Harn einige Tropfen zu. Nach Ollendorf zeigt es noch 0,005%, nach Schick 0,007% Eiweiss an, lässt aber nach Ollendorf eine Verwechselung mit Harnpepton zu, nach Schick zwar eine Verwechselung mit Albumosen, aber nicht mit Harnpepton. Ein Niederschlag tritt aber nach Mörner erst auf Zusatz grosser Mengen Rhodankalium ein. — Statt der Lösung hat Zouchlos eine trockene Mischung von Rhodankalium und Bernsteinsäure vorgeschlagen; mit diesen geben nach Ollendorf nur noch 0,007% Eiweiss einen Niederschlag, und nach Schick ist die Empfindlichkeit etwas geringer, als bei Verwendung

[1]) B. Bardach, Zeitschr. f. analyt. Ch. 43. 554. 1904.
[2]) H. Schmidt, Wien. klin. Wochenschr. 20. 228. 1907.
[3]) Hallauer, Münch. med. Wochenschr. 50. 1539. 1903.
[4]) Schweissinger, Münch. med. Wochenschr. 51. 1172. 1904.
[5]) Kowalewsky, Petersburger med. Wochenschr. 31. 1887; Jahresber. f. Tierch. 1887. 4.
[6]) G. Mya, Arch. d. Pharm. 225. 500; Zeitschr. f. analyt. Ch. 27. 124.

Digitized by Google

von Essigsäure. — Nach dieser letzteren Modifikation können auch im normalen Hunde-, Pferde-, Rinderharn Trübungen auftreten (Henn[1]).

d) Die Fällung durch Metaphosphorsäure wurde zuerst von Grigg, dann von Hindenlang[2]) zum Nachweis von Eiweiss im Harn angewandt.

Metaphosphorsäure fällt alle Eiweisskörper, mit Ausnahme des Peptons (Hofmeister); nach Dillner sowie Obermayer[3]) werden zwar Albumosen in konzentrierter Lösung von der Säure gefällt, lösen sich aber im Überschuss der Säure leicht wieder auf.

Die Probe ist nach Hindenlang so empfindlich wie die Kochprobe und die Probe mit Ferrocyanwasserstoff, wird aber nach Dillner durch die Hellersche Probe übertroffen. Albumose wird gleichfalls gefällt, ebenso Harnsäure. Die Reaktion scheint nicht ganz verlässlich zu sein, da auch manche gegen andere Proben eiweissfreie Harne Trübungen geben (Penzoldt, von Noorden). Sättigen der Albuminlösung mit Bittersalz schwächt nach Kowalewsky[4]) die Empfindlichkeit ab.

Man kann die Metaphosphorsäure in Substanz und in Lösung anwenden; in Lösung geht die Säure aber leicht in gewöhnliche Phosphorsäure über, durch welche Eiweiss nicht gefällt wird. Nach Blum[5]) soll diese Umwandlung langsamer erfolgen, wenn man der 10 %igen Säurelösung auf 100 ccm eine Lösung von 0.03 bis 0.05 g Manganchlorür in verdünnter Salzsäure und einige Messerspitzen Bleisuperoxyd hinzufügt und filtriert. Die Lösung ist schön rosenrot, so lang Metaphosphorsäure als solche vorhanden ist.

e) Trichloressigsäure, zuerst von Grosssstern und Fudakowsky, dann wieder von Raabe und von Kowalewsky empfohlen; sie fällt die Albumosen (Pepton) nicht oder unvollständig, der Niederschlag löst sich in der Wärme (Martin, Obermayer)[6]).

Die Trichloressigsäure (S. 1088) wendet man nach Raabe in der Weise an, dass man in 1 ccm filtrierten Harn in einem engen Reagenzglas ein kleines Stück der Säure wirft; bei Gegenwart von Eiweiss entsteht an der Grenze zwischen Harn und der entstandenen Lösung der Säure eine scharf abgegrenzte, trübe Zone. Normaler Harn gibt keine ähnliche Reaktion; harnsäurereicher kann eine diffuse Trübung aufweisen, die aber beim Erwärmen verschwindet oder überhaupt nicht auftritt, wenn man den Harn vorher verdünnt. Die Probe soll empfindlicher sein, als die mit Metaphosphorsäure und die Hellersche. — Die Trichloressigsäure kann dem Harn auch in konzentrierter Lösung zugesetzt werden. — Reale erwärmt mit Trichloressigsäure zum Sieden, wobei die Fällung intensiver wird.

---

[1]) C. Zouchlos, Wien. allg. med. Zeitg. 1. 2. 1890; Zeitschr. f. analyt. Ch. **29**. 380. — A. Ollendorf, Deutsche Medizinalztg. 1893. 77; Zeitschr. f. analyt. Ch. **33**. 120. — R. Schick, Prager med. Wochenschr. 1890. 306. — K. A. H. Mörner, Skandinav. Archiv **6**. 369. 1896. — Henn, l. c.

[2]) W. C. Grigg, Brit. med. Journ., May 29, 1880. 809; Jahresber. f. Tierch. 1880. 1. — C. Hindenlang, Berl. klin. Wochenschr. 1881. 205.

[3]) F. Hofmeister, Zeitschr. f. analyt. Ch. **21**. 151. — Hj. Dillner, Jahresb. f. Tierch. 1882. 209. — F. Obermayer, Wiener med. Jahrb. 1889. 375; Zentralbl. f. Physiol. 1889. 223.

[4]) Hj. Dillner, Jahresber. f. Tierch. 1882. 209. — C. v. Noorden, Arch. f. klin. Med. **38**. 222. 1885. — Kowalewsky, Petersburg. med. Wochenschr. **31**. 1887; Jahresber. f. Tierch. 1887. 4.

[5]) L. Blum, Chem. Zentralbl. 1887. 345.

[6]) Grosssstern u. Fudakowsky, bei Kowalewsky, Zeitschr. f. analyt. Ch. **24**. 551. 1885. — A. Raabe, Pharm. Zeitschr. f. Russland **20**. 445; Zeitschr. f. analyt. Ch. **21**. 303. — N. Kowalewsky, a. a. O. — C. J. Martin, Journ. of Physiol. **15**. 376. — F. Obermayer, a. a. O. — E. Reale, Jahresber. f. Tierch. **27**. 344. 1897.

Digitized by Google

f) Salicylsulfonsäure (S. 1088) kann im Harn direkt gelöst werden, indem man einige Krystalle von Salicylsulfonsäure hinzugibt, oder man setzt tropfenweise eine ca. 20%ige Lösung von Salicylsulfosäure dem Harn zu (O. Mayer). Roch bereitet ein Reagens, indem er 13 g Salicylsäure in 20 g H_2SO_4 in der Wärme löst und dann nach dem Erkalten 67 ccm Wasser hinzusetzt. Koch verwendet eine gesättigte wässerige Lösung, ebenso Murray[1]). Die Probe nach Roch so empfindlich wie die Hellersche Probe, zeigt nach William noch Eiweiss bei einer Verdünnung von 1:130000 an. Gibt mit normalem Harn keinen Niederschlag (Roch), fällt die Harnsäure nicht (Roch, William)[2]), auch nicht die Harzsäuren (William).

Albumosen werden zum Teil gefällt; die Niederschläge lösen sich beim Erwärmen, während das Albumin sich nicht beim Erwärmen löst (Stein)[3]).

Nach Mankiewicz entsteht bei einem Eiweissgehalt von 0,001% eine bläuliche Färbung, bei 0,003 % Opalescenz, bei 0,005—0,01 % ein Niederschlag mit weisslicher Färbung, bei 0,02 % eine ganz dichte Trübung. Praun versetzt einige ccm filtrierten Harn mit einigen Tropfen konzentrierter Lösung von Salicylsulfosäure und schichtet dann von dem filtrierten Harn darüber. So hat man den gemischten Harn und den Vergleichsharn im selben Reagenzglas und kann noch Trübungen feststellen, die sich sonst nicht wahrnehmen lassen. Die Probe ist demnach etwas schärfer wie die Hellersche Probe, nach Neumann überhaupt die schärfste Eiweissprobe. Auch Cammidge[4]) hält dieselbe für die beste und zuverlässigste.

Slowzoff[5]) beschreibt einen eigenartigen, albumoseähnlichen Eiweisskörper, der sich periodisch im Morgenharn findet, der mit Salicylsulfosäure einen Niederschlag bildet, der sich in der Wärme wieder auflöst.

Oxyphenylschweflige Säure, welche $\frac{1}{3}$ Sulfosalicylsäure enthält, fällt nach Bourceau[6]) ausschliesslich das koagulierbare Eiweiss, nicht aber Albumosen, Peptone, Alkaloide, Antipyrin, Salicylate, Urate, Phosphate.

g) Asaprol (β-Naphthol-α-Sulfosäure). Man setzt zu 4—5 ccm Harn 1—2 Tropfen Salzsäure und 10 Tropfen 10 %ige Asaprollösung oder verwendet eine 10 %ige Asaprollösung, welche mit 0,1 Vol. Salzsäure versetzt ist. Zeigt 0,01 % Eiweiss an (Riegler).

h) Aseptol (Orthophenolsulfosäure) kommt in $33\frac{1}{3}$ %iger Lösung in den Handel. Zu 5 ccm Harn 15—20 Tropfen. Fällt Eiweiss noch bei 0,005 %, ist aber nicht so haltbar wie Asaprol (Riegler)[7]).

---

1) G. Roch, Pharmak. Zentralhalle **42**. 393. 1901. — O. Mayer, Schweiz. Wochenschr. f. Ch. u. Pharm. **45**. 446. 1907. — Koch, Zeitschr. f. wissensch. Mikroskop. 1894. 407. — Murray, Zeitschr. d. österr. Apoth.-Vereins 1904. 578.

2) G. Roch, Pharmak. Zentralh. **30**. 549. 1889; Zeitschr. f. analyt. Ch. **29**. 241. — J. A. Mac William, Brit. med. Journ. 1891. **1**. 837. u. 1892. **1**. 115; Zeitschr. f. analyt. Ch. **30**. 749; **31**. 483.

3) R. Stein, Chem. Zentralbl. 1898. I. 225.

4) Mankiewicz, Chem. Zentralbl. 1900. I. 630. — A. Praun, Deutsche med. Wochenschr. **27**. 220. 1901. — J. Neumann, Diss. Erlangen 1891. — P. P. Cammidge, Lancet 1899. 22. April.

5) W. Slowzoff, Wratsch. 1906. Nr. 7.; Jahresber. f. Tierch. **36**. 313. 1906.

6) Bourceau, Compt. rend. Soc. Biol. **49**. 317. 1897.

7) E. Riegler, Wien. klin. Wochenschr. **52**. 981. 1894; Wien. med. Blätter **35**. 1895. 551; Chem. Zentralbl. 1895. **1**. 362 und 1083.

Digitized by Google

Barral[1]) schichtet filtrierten Harn auf eine 20 %ige Lösung von Aseptol. Bei Anwesenheit von Gallenfarbstoff entsteht ein grüner Ring, bei Anwesenheit von Eiweiss ein weisser Ring (noch bei 5 mg im Liter). Auch Albumosen werden gefällt, die Niederschläge lösen sich beim Erwärmen.

i) Pikrinsäure. Tropft man normalen Harn in eine kalt gesättigte Pikrinsäurelösung, so bleibt sie klar, während nach jedem Tropfen eiweisshaltigen Harns ein weisser Niederschlag in Streifen zu Boden sinkt (Galippe). — Nach Hager mischt man Harn mit einem halben Volumen reiner Salzsäure und schichtet auf die Flüssigkeit kalt gesättigte Pikrinsäurelösung. Bei Gegenwart von Eiweiss entsteht an der Grenzzone eine Trübung und zwar fast augenblicklich, wenn Spuren Eiweiss vorhanden sind, sogleich, wenn der Harn 2% (!) Eiweiss enthält[2]). — G. Johnson überschichtet den Harn mit dem gleichen Vol. kalt gesättigter Pikrinsäurelösung; sie muss im Überschuss vorhanden sein, wenn sie fällen soll. — Esbach[3]) bediente sich früher zur Fällung des Eiweisses bei seiner Art der quantitativen Bestimmung des Eiweisses einer Mischung von 9 Vol. Pikrinsäurelösung, mit 10,5 g Pikrinsäure im Liter, und 1 Vol. Essigsäure von 1,040 Dichte, neuerdings einer Lösung von 10 g Pikrinsäure und 20 g krystallisierter Zitronensäure im Liter. — Die Säure fällt alle Eiweisskörper, auch das Pepton und den mucinartigen Bestandteil des normalen Harns, ferner die Harnsäure sowie das Kreatinin (Jaffé, siehe S. 666) und Alkaloide (wie das Chinin, Hager). S. auch bei quantitativer Bestimmung nach Esbach.

Nach Johnson sollen sich die von Albumosen, dem Mucin, Alkaloiden und Uraten herrührenden Niederschläge beim Erwärmen wieder lösen; andererseits ist aber zu beachten, dass normaler Harn beim Kochen mit Pikrinsäure einen starken flockigen Niederschlag gibt (Huppert). Derartige Niederschläge treten nach meinen Erfahrungen nur bei Zusatz kleiner Pikrinsäuremengen auf, nicht bei Zusatz von reichlich Pikrinsäure (Schulz).

k) Die bereits von Owen Rees, später wieder von Almén empfohlene alkoholische, essigsäurehaltige Tanninlösung (4 g Tannin in 8 ccm 25 %iger Essigsäure und 190 ccm Weingeist von 40—50 %) fällt allerdings noch sehr geringe Mengen Albumin, aber sie gibt auch in normalem Harn mindestens Trübungen. Einen beträchtlichen Niederschlag erhält man nach Ott[4]) auf Zusatz Alménscher Tanninlösung zu normalem Harn, welcher zur Hälfte mit Kochsalz gesättigt ist.

Tognetti[5]) empfiehlt folgendes Verfahren: Man löst 1,5 g Gerbsäure in 500 ccm Alkohol. Davon fügt man 3 ccm zu ebensoviel Harn und gibt noch 3 ccm 25 %iges HCl hinzu. Bei Gegenwart von Eiweiss bleibt ein Niederschlag. Es sollen noch 1 : 200000 Eiweiss entdeckt werden können. Bei ikterischem Harn entfernt man den Farbstoff durch Zusatz von Eisessig.

l) Phenol. Méhu verwendet zum Fällen des Eiweisses behufs quantitativer Bestimmung desselben eine Lösung von je 1 Teil krystallisiertem Phenol und käuflicher Essigsäure in 2 Teilen Alkohol von 90 %; der Harn wird auf 100 Vol. mit 2—3 Vol. Salpetersäure und 10 Vol. der Phenollösung versetzt und geschüttelt, worauf sich der Niederschlag absetzt. Schneller erfolgt die Abscheidung des Niederschlags, wenn man statt der Salpetersäure ein halbes Volumen gesättigter

---

[1]) Barral, Presse médicale 1897. 121.

[2]) Die Angabe Hagers findet sich zuerst in dessen Handbuch d. pharm. Praxis 2. 1187. In der neuen Auflage 1907 fehlt dieselbe. Die Angabe, dass ein Harn mit 2 % Eiweiss sogleich eine Trübung gebe, ist mir nicht verständlich, da so hoher Eiweissgehalt praktisch ja kaum vorkommt. (Schulz.)

[3]) Galippe, Gaz. méd. de Paris **10**. 1873. 122. — H. Hager, Chem. Zentralbl. 1879. 696; Zeitschr. f. analyt. Chem. **19**. 382. Pharmaz. Zentralh. **20**. 337. 1879. — G. Johnson, Brit. med. Journ., May 1883. 504. 614 und Oktober 1884; Lancet II. 18. 1882 und Dezbr. 1884; Zeitschr. f. analyt. Ch. **23**. 115; Virchow-Hirschs Jahresber. 1882. **1**. 162; 1883. **1**. 257; 1884. **1**. 241. — Esbach, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1880. 430.

[4]) Ad. Ott, Prager Zeitschr. f. Heilkunde **16**. 177. 1895.

[5]) A. Tognetti, Gazz. degli osped. 1906. Mai.

Digitized by Google

Glaubersalzlösung verwendet. — Ch. Meymott Tidy versetzt den Harn im Reagenzglas mit 10 Tropfen Alkohol von 0,805 Dichte und 10 Tropfen Phenol, worauf sich bei Gegenwart selbst nur von Spuren Eiweiss (1: 15 000) Flocken abscheiden sollen; oder er fügt dem Harn 15 Tropfen Alkohol zu und darauf eine Lösung von Phenol in so viel Eisessig, dass sich die Lösung mit Wasser nicht mehr trübt. — Der Eiweissniederschlag, welchen das Méhusche Reagens gibt, verschwindet beim Erwärmen und gestattet keine Unterscheidung von Albumosen und Alkaloiden. Millard [1]) wendet daher ein Reagens an, welches aus 2 Gewichtsteilen krystallisiertem Phenol, 7 Eisessig und 22 Kalilauge (Normallauge) besteht; die Menge der Lauge soll genau eingehalten werden (sie ist der Menge des Phenols äquivalent). Man schichtet den Harn auf das Reagens. Niederschläge von Alkaloiden oder Pepton lösen sich in der Wärme und in Alkohol, Harzsäuren in Alkohol. Fällt Eiweiss noch bei 1: 200 000; auch Garrat [1]) hält diese Reaktion für sehr scharf.

Reagiert der Harn nicht genügend sauer, so soll man ihn nach Ilimow mit zweifachsaurem phosphorsauren Natron ansäuern, den Mucinniederschlag sich absetzen lassen oder abfiltrieren und dann 5 %ige Phenollösung zufügen. Trete danach, auch bei Erwärmen, keine Trübung oder kein flockiger Niederschlag auf, so sei der Harn eiweissfrei. — Nach Lewis [2]) dagegen entstehen auch in ganz normalen Harnen auf Zusatz von Karbolsäure und Essigsäure flockige Niederschläge.

Colquhoun [3]) überschichtet den Harn mit einer gesättigten Lösung von Karbolsäure in absolutem Alkohol. Die Probe soll der Hellerschen Probe überlegen sein. — Fuchs benutzt eine Mischung von gleichen Teilen Phenol und Glycerin. Eiweisshaltiger Harn wird durch dieses Reagens getrübt oder gefällt. Empfindlichkeit 1: 1000.

m) Sozojodolsäure. Man löst 10 g Sozojodolsäure (Dijodparaphenolsulfosäure) in 100 ccm Alkohol. 10 ccm Harn versetzt man mit 10 Tropfen Reagens. Bei Anwesenheit von Eiweiss entsteht eine weisse Trübung oder ein Niederschlag, der beim Erwärmen nicht verschwindet (Guérin) [4]).

n) Wolframsäure und Molybdänsäure (S. 1088). Sonnenschein verwendet eine mit Essigsäure (oder Phosphorsäure) stark angesäuerte Lösung eines löslichen Salzes der Säuren, Maschke eine Lösung von 30 Teilen wolframsaurem Natron und 75 Teilen 30 %iger Essigsäure in 120 Teilen Wasser, Oliver [5]) eine Mischung aus einer 20 %igen Lösung von wolframsaurem Natron, einer 60 %igen Zitronensäurelösung und destilliertem Wasser zu gleichen Teilen. Jaworowski eine Lösung von 1 Teil molybdänsaurem Ammon oder wolframsaurem Natron und 4 oder 5 Teilen Weinsäure in 40 Teilen Wasser. Nach Jaworowski setzt man zu 4 ccm mit Weinsäure angesäuertem Harn einige Tropfen des Reagens; Harn, der auf 200000 nur 1 Teil Eiweiss enthält, gibt in 2—3 Sekunden Trübung oder Niederschlag. Das Reagens gibt schon mit normalem Harn eine sehr deutliche Trübung (Huppert), fällt auch Harnpepton und Alkaloide, der Peptonniederschlag löst sich in der Wärme. Nach Sonnenschein löst sich der Wolframsäure-Niederschlag in Ammoniak; vorher ist die Phosphorsäure wegzuwaschen, weil sonst phosphorwolframsaures Ammon ausfällt.

[1]) Méhu, Journ. de pharm. et de chimie 9. 95. 1869; Zeitschr. f. analyt. Ch. 8. 522. — Tidy, The Lancet. 1870. 1. 691; Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1870. 511. — Henry R. Millard, A treatise on Brights disease of the kidneys. Sec. edition. New York 1886. 65. — G. M. Garrat, Jahresber. f. Tierch. 29. 294. 1899.

[2]) S. P. Ilimow, Petersburger med. Wochenschr. 26. 1879; Zeitschr. f. analyt. Ch. 19. 382. — W. M. B. Lewis, New York med. Record, Sept. 15. 1870. 319.

[3]) W. Colquhoun, The Lancet. 1899. 6. Mai. — Fuchs, Pharm. Zentralbl. 1903. 400.

[4]) G. Guérin, Journ. de Pharm. et Chim. [6]. 9. 576. 1899.

[5]) O. Maschke, Zeitschr. f. analyt. Ch. 16. 427. 1877. — Oliver, On bedside urine testings. London 1883, nach E. Lecorché u. Ch. Talamon, Traité de l'albuminurie. Paris 1888. 44. — Jaworowski, Jahresb. f. Tierch. 22. 192 1892.

Digitized by Google

o) Chromsäure (S. 1088). Zusatz einiger Tropfen einer 5—10 %igen Lösung zu schwach angesäuertem eiweisshaltigem Harn bewirkt einen gelblichen flockigen Niederschlag (Rosenbach). — Ein Peptonniederschlag löst sich in der Wärme; es können auch Harzsäuren ausfallen (Guérin). — Kaliumbichromatlösung wirkt nicht direkt eiweissfällend, sondern erst nach Säurezusatz (Gies)[1].

p) Jodjodwasserstoff (S. 1088) aus 2 g Jod, 4 g Jodkalium in 500 ccm Wasser und 500 ccm starker Essigsäure. Fällt auch Alkaloide. Tanret[2]) schreibt dem Reagens dieselbe Empfindlichkeit zu wie dem Jodquecksilberkalium (1088).

q) Chlorkalk (S. 1088). Eine Mischung aus gleichen Volumen Harn und konzentrierter Salzsäure wird mit 2—3 Tropfen gesättigter Chlorkalklösung überschichtet. An der Grenzschicht weisser Saum. Zeigt noch 0,01 % Eiweiss an (Jolles).

Im alkalischen Harn der Herbivoren ist bei dieser Konzentration die Reaktion unscharf wegen der sich entwickelnden CO_2-Blasen (Henn)[3].

r) Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdänsäure sind zum Nachweis von Eiweiss im Harn nicht geeignet, weil sie viele normale Harnbestandteile fällen (S. 1087). Über Verwendung der Phosphorwolframsäure zum Nachweis von Albumosen s. dort.

s) Quecksilbersalze.

α) Quecksilberchlorid. Nach Zouchlos gibt Quecksilberchlorid in einem Eiweissharn eine durch Essigsäure nicht verschwindende Trübung, während in normalem Harn entweder eine Trübung ausbleibt oder durch einige Tropfen Essigsäure leicht zu beseitigen ist. Mit einer Mischung von 1 Teil Essigsäure und 6 Teilen einer 1 %igen Sublimatlösung wird zwar Eiweiss gefällt, es entsteht aber kein Niederschlag von Pepton, Harnsäure, Phosphorsäure. Schick bestätigt die Unfällbarkeit von Pepton und Albumose; das Reagens bewirkt aber in stark verdünnten Harnsäurelösungen Trübung und gestattet nur den Nachweis von 0,014 % Eiweiss. Auch Ollendorff[4]) findet die Probe nicht empfindlich genug.

Natriumquecksilberchlorid. Fürbringer[5]) schlägt ein Gemenge des Doppelsalzes von Quecksilberchlorid und Chlornatrium mit Zitronensäure (in Gelatinekapseln von Apotheker Stütz in Jena) vor. Mayer löst 5 g $HgCl_2$, 5 g Zitronensäure, 40 g NaCl in 500 ccm Wasser. Das Reagens ist fast so empfindlich, wie Tanrets Reagens, fällt im Gegensatz zu diesem Alkaloide nicht, gibt aber manchmal auch mit Harnen Trübung, in denen sich sonst kein Eiweiss nachweisen lässt. Sehr konzentrierte Harne, welche Harnsäure abscheiden könnten, müssen vor der Prüfung verdünnt werden.

Um die Schichtung zu erleichtern, empfiehlt Ravold das Spieglersche Reagens mit dem gleichen Volum konzentrierter Magnesiumsulfatlösung zu versetzen.

Spieglers Reagens besteht aus einer Lösung von 8 g Sublimat, 4 g Weinsäure, 20 g Rohrzucker oder statt dessen, wegen der grösseren Haltbarkeit, besser 20 g Glycerin, in 200 ccm Wasser. Der mit einigen Tropfen Essigsäure versetzte, wenn nötig, filtrierte Harn wird auf das Reagens geschichtet. Es ist Eiweiss noch in der Verdünnung von 1 : 250 000 nachweisbar (nach Pollacci sogar 1 : 365 000), und normale Harne geben die Reaktion sehr häufig. Die Spieglersche Reaktion ist manchmal positiv, wo alle anderen Reaktionen versagen; es handelt sich da wohl um Mucinspuren (Schweissinger). Gegen Täuschungen durch Mucin soll man sich schützen können, wenn man eine Schicht-

[1]) W. J. Gies, Americ. Journ. of Physiol. 8. 15.

[2]) Tanret, Journ. de pharm. et de chimie [5] 28. 490; Chem. Zentralbl. 1894. 1. 112.

[3]) W. Henn, Zeitschr. f. Tiermed. 13. 212. 1910.

[4]) C. Zouchlos, Wiener allgem. med. Ztg. 1. 1890. 2; Zeitschr. f. analyt. Ch. 29. 380. — R. Schick, Prager med. Wochenschr. 1890. 306. — A. Ollendorff, Deutsche Medizinalztg. 1893. 77; Zeitschr. f. analyt. Ch. 33. 120.

[5]) P. Fürbringer, Deutsche med. Wochenschr. 27. 1885. 467; Zeitschr. f. analyt. Ch. 25. 285. — O. Mayer, Apoth.-Ztg. 1907. 477.

Digitized by Google

probe mit 2 %iger Essigsäure als Kontrollprobe anstellt (Oppe). In Hunde- und Pferdeharn tritt auch normalerweise die Reaktion mit grosser Regelmässigkeit ein (Henn). Auch Albumose ist nachweisbar, Harnpepton dagegen nicht (Wöchnerinnenharn ohne Eiweiss, aber mit Biuretprobe). Bei sehr dünnen Harnen (von 1,005 Dichte) versagt die Probe, tritt aber noch ein, wenn man den Harn vorher mit Kochsalzlösung vermischt. Jodhaltiger Harn gibt einen Niederschlag von Quecksilberjodid, ein Gehalt des Harns an Bromiden stört dagegen nicht. — Pollacci löst 1 g Weinsäure, 5 g Sublimat, 10 g NaCl in 100 ccm Wasser, setzt 5 ccm 40 %iges Formaldehyd (Formol) zu und schichtet 2 ccm Reagens auf 3 bis 4 ccm Harn. Schärfe 1 : 370 000. Die Modifikation von Pollacci ist noch empfindlicher, wie die Spieglersche Reaktion, daher für klinische Zwecke zu empfindlich; sie zeigt nicht nur die Eiweiss- und Mucinspuren des normalen Harns an, sondern scheint auch nichteiweissartige Stoffe zu fällen (Lindsay u. Gies[1])).

Jolles[2]) verwendet eine Lösung von 10 g Sublimat, 20 g Bernsteinsäure und 10 g Kochsalz in 500 ccm Wasser. Es werden 4—5 ccm Harn mit 1 ccm 30 %iger Essigsäure und 4 ccm des Reagens geschüttelt, daneben 4—5 ccm Harn mit 1 ccm Essigsäure und 4 ccm Wasser. Die zweite Probe ergibt die Menge der mucinähnlichen Substanz und aus dem Vergleich dieser Probe mit der ersten erkennt man, ob der Harn Eiweiss enthält. Nach Jolles ist die Reaktion noch deutlich, wenn der Harn Eiweiss im Verhältnis von 1 : 120 000 enthält (was Graul bestätigt und ebenso Pollacci). — Man kann den Harn auch auf das Reagens schichten; die Probe ist dann so empfindlich wie die von Spiegler; bei jodhaltigen Harnen tritt ein Ring von Quecksilberjodid auf.

Rössler[3]) benutzt das von Jolles angegebene Reagens zu einer Schätzung der Eiweissmenge.

Amann[4]) löst 10 g $HgCl_2$, 10 g Bernsteinsäure, 10 g Chlornatrium in 50 ccm Eisessig, 200 ccm Wasser, 250 ccm 90 %igem Alkohol. Die Lösung wird mit Wasser zu 500 ccm ergänzt.

Alpers[5]) säuert den Harn mit HCl an und setzt das gleiche Volum 1 %iger Quecksilbersuccinimidlösung hinzu. Bei Gegenwart von Eiweiss entstehen weisse Wolken. Empfindlichkeit 1 : 150 000.

β) Jodquecksilber-Kalium, Tanrets Reagens, auch von Bouchardat und Cardier empfohlen. Zur Herstellung desselben sollen 1,35 g Quecksilberchlorid unter Verwendung von möglichst wenig Wasser in 3,32 g Jodkalium (im Verhältnis von 1 Mol. $HgCl_2$ zu 4 Mol. KJ) gelöst, die Lösung mit 60 ccm Wasser verdünnt und darauf mit 20 ccm Eisessig versetzt werden. Da die entstehende Verbindung in überschüssiger Eiweisslösung löslich ist, aber nicht in überschüssigem Reagens, so setzt man das Reagens dem Harn tropfenweise bis zum Eintritt einer Trübung oder eines Niederschlages zu. Das Reagens fällt ausser Eiweiss (und der mucinähnlichen Substanz) auch Pepton und Alkaloide. Der Eiweissniederschlag ist gallertig, unlöslich in Essigsäure, Jodkalium, Alkohol, Äther. Der Peptonniederschlag löst sich beim Erwärmen. Um Eiweiss, Pepton und Alkaloide zu trennen, säuert man mit Schwefelsäure an und kocht mit einem Überschuss von Valserschem Reagens (einer mit Quecksilberjodid gesättigten 10 %igen Jodkaliumlösung), wobei der Eiweissniederschlag ungelöst bleibt. Beim Erkalten

---

[1]) E. Spiegler, Wiener klin. Wochenschr. 1. 1892; Berichte d. chem. Gesellsch. **25**. 375; Zentralbl. f. klin. Med. **14**. 49. 1893; Wiener med. Blätter 38. 1894. Schweissinger, Münchener med. Wochenschr. **51**. 1172. 1904. — Oppe, Ebenda (Diskussion). — W. Henn, l. c. 209. 211. — E. Pollacci, Bull. Chin. Farm. **40**. 789. 1901. — Gordon Lindsay und Will. J. Gies, Amer. Med. 5. 175; Jahresber. f. Tierch. **33**. 435. 1903.

[2]) A. Jolles, Zeitschr. f. physiol. Ch. **21**. 306. 1895; Zeitschr. f. analyt. Ch. 39. 146. 1900. — G. Graul, Diss. Würzburg 1897.

[3]) Osk. Rössler, Deutsche med. Wochenschr. **29**. 335. 1903.

[4]) Amann, Pharm. Zentralhalle **41**. 557. 1900.

[5]) Wm. C. Alpers, Ebenda 39. 619. 1898.

Digitized by Google

des Filtrats fallen Pepton und Alkaloide aus. Schüttelt man die Probe mit Äther, so gehen die Alkaloide mit Jodkalium in Lösung; in der rückständigen wässerigen Lösung lässt sich dann das Pepton mit dem Jodquecksilberkalium nachweisen. Nach Brasse[1]) erzeugen Xanthin, Hypoxanthin, Allantoin, Kreatin, Kreatinin mit dem Reagens keinen Niederschlag; Méhu hatte angegeben, dass auch Guanin, Xanthin und Kreatinin durch das Reagens gefällt werden.

Nach Vallery[2]) wird das Eiweiss durch das Tanretsche Reagens vollständig gefällt. Es handelt sich um eine einfache Adsorptionsverbindung, welche durch Waschen mit siedendem Wasser und siedendem Alkohol wieder völlig zerlegt wird. Die Fällung des Eiweiss durch das Reagens ist keine augenblickliche. Die Menge des gefällten Eiweiss ist eine Funktion des in Lösung gebliebenen Jodquecksilberkalium.

Eine wässerige Lösung von Jodkaliumquecksilbercyanid kann nach Gouver[3]) ebenfalls als Eiweissreagens benutzt werden.

t) Jodwismutkalium ist nach Cohen[4]) für den Nachweis von Eiweiss im Harn empfindlicher als Kochsalz und Essigsäure, Ferrocyanwasserstoff, Pikrinsäure, Salpetersäure. Das Reagens muss in salzsaurer Lösung angewandt werden; da es beim Verdünnen mit Wasser einen Niederschlag von Jodwismut gibt, so müssen, um einem Irrtum zu entgehen, in seiner Anwendung auf den Harn die zu seiner Lösung erforderlichen Mengen Salzsäuren ermittelt werden (vgl. S. 312).

u) Ammoniummolybdat. Eiweiss, Peptone, Globuline geben mit Ammoniummolybdat bei saurer Reaktion einen Niederschlag. Der Eiweissniederschlag löst sich beim Erwärmen nicht, wohl aber der mit Peptonen und Globulinen entstehende.

Corzo[5]) benutzt eine Lösung von 1 g Ammoniummolybdat und 4 g Weinsäure in 40 ccm Wasser. Jaworowski hatte statt der Weinsäure die gleiche Menge Zitronensäure genommen. Das Reagens wird tropfenweise zu etwa 4 ccm Harn hinzugesetzt.

v) Eisenchlorid. Man säuert den zu prüfenden Harn mit Essigsäure an und schichtet eine Lösung von Eisenchlorid darüber. Bei Anwesenheit von Eiweiss entsteht ein weisslicher Ring (Haslam)[6]).

w) Ammoniumpersulfat. Den zu prüfenden Harn schichtet man auf eine 10%ige Lösung des Persulfat. Es entsteht eine weissgraue trübe Zone. Empfindlichkeitsgrenze 1 : 100000 (Strzyzowski)[7]).

x) Formol. Man erwärmt 4—5 ccm Harn bis fast zum Sieden, dann gibt man einige Tropfen Formaldehyd (40%ige Lösung) hinzu. Enthält der Harn Eiweiss, so sieht man nach einigen Sekunden klumpige, bräunlichweisse Massen, die sich bald zusammenballen und leicht abfiltrierbar sind. Der Harn muss frisch sein, da NH_3 sich mit Formol umsetzt. Sehr eiweissreiche Harne geben mit Formol schon ohne Erwärmung Niederschläge (Trétrôp)[8]).

---

[1]) Ch. Tanret, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1877. 493; Zeitschr. f. analyt. Ch. **17**. 525; Journ. de pharm. et de chimie [5] **28**. 433 u. 490; Chem. Zentralbl. 1894. 1. 109 u. 111. — Bouchardat und Cardier, Gaz. méd. de Paris 46. 1876. — L. Brasse, Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1887. 369; Jahresber. f. Tierch. 1887. 187; Zeitschr. f. analyt. Ch. **28**. 757.

[2]) L. Vallery, Compt. rend. de l'Acad. des sciences **153**. 1243. 1911.

[3]) Gouver, Mercks Index 1902. 262.

[4]) A. Cohen, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1889. 2. 561; Jahresber. f. Tierch. 1888. 116.

[5]) Corzo, Apothekerztg. 1907. 6. — Jaworowski, Jahresber. f. Tierch. **22**. 192. 1892.

[6]) Haslam, Zeitschr. f. analyt. Ch. **23**. 115. 1884.

[7]) Cas. Strzyzowski, Schweiz. Wochenschr. f. Pharm. **36**. 545. 1898.

[8]) Trétrôp, La Clinique **15**. 403. 1901.

Digitized by Google

y) Alkoholfällung. Für besondere Zwecke hat man den Harn mit (3 bis 4 Vol.) Alkohol gefällt und mit dem Niederschlag Eiweissreaktionen angestellt (Farbenreaktionen usw.)

z) Anilinfarben (s. vorher Seite 1088). Violettschwarz. Man verwendet es in 0,2%iger Lösung. Man säuert den Harn mit 0,4%iger Essigsäure an, erwärmt und gibt bei einem vermuteten Eiweissgehalt von 1 : 1000—1 : 5000 auf 15 ccm Harn 2—3 ccm Reagens hinzu. Bei geringerem Eiweissgehalt ist das Reagens entsprechend zu verdünnen (Heidenhain)[1]).

Über den Grad der Empfindlichkeit dieser Proben bei der Untersuchung von Harn sind von Lecorché und Talamon, von Vas, von Ott, von Pollacci, Henn u. a.[2]) vergleichende Bestimmungen angestellt worden. Danach ist die Probe von Spiegler, namentlich in der Modifikation von Pollacci (3. s. α) die empfindlichste, dieser folgen mit ungefähr gleichem Werte Trichloressigsäure (3. e), Sulfosalicylsäure (3. f), die Phenolprobe von Millard (3. l), Molybdänsäure (3. n) und Tanrets Reagens (3. s. β); dann die Kochprobe (1), die Probe mit Ferrocyanwasserstoff (3. a) und die Hellersche Probe (2. a); danach die Probe mit Neutralsalz und Säuren (Roberts 2. b), die mit Rhodankalium und Essigsäure (3. c), Metaphosphorsäure (3. d) und Pikrinsäure (3. i); minder empfindlich sind die Proben mit Sublimat und Essigsäure (3. s. α), die von Jolles (3. q) und die von Rosenbach (3. o).

Verwechslungen mit anderen Substanzen als Eiweiss (Albumin und Globulin) werden am sichersten durch die minder empfindlichen Proben ausgeschlossen, und von diesen sind wieder die empfindlichsten die Kochprobe, die Hellersche Probe, die mit Ferrocyankalium und Essigsäure, mit Rhodankalium und Essigsäure und die mit Salicylsulfonsäure. Mittels der Spieglerschen Probe wird auch das normale Eiweiss nachgewiesen. Für den Nachweis pathologischer Eiweissmengen genügen die Kochprobe, die mit Ferrocyanwasserstoff und die Hellersche Probe vollständig.

Die Schwierigkeiten bestehen namentlich dann, wenn es sich um kleine Mengen von Albumin bezw. Globulin handelt, insbesondere wenn dieselben sich neben anderen Eiweisskörpern vorfinden, die diagnostisch eine andere Bedeutung haben.

Man soll sich in solchen Fällen nicht auf eine einzelne Reaktion verlassen. Man wird auskommen, wenn man die Kochprobe richtig ausführt (Kochen ohne vorherigen Säurezusatz, eventuell nach Verdünnen des Harns) und dieselbe durch die Probe mit Ferrocyankalium-Essigsäure und die Hellersche Probe kontrolliert. Die Probe mit Salicyl-

[1]) Martin Heidenhain, Münchener med. Wochenschr. 49. 437. 1902.

[2]) E. Lecorché und Ch. Talamon, Traité de albumninurie, Paris 1888, 35. — R. Vas, Ungarisches Archiv f. Med. 1. 118. 1893. — Ad. Ott, Deutsches Archiv f. klin. Med. 53. 604. 1894. — E. Pollacci, Jahresber. f. Tierch. 31. 401. — W. Henn, l. c. 212.

sulfonsäure, bei der namentlich die Verwendbarkeit in fester Form für die Praxis am Krankenbette eine Empfehlung ist, kann als Vorprobe dienen, bei deren negativem Ausfall abnorme Albuminurie auszuschliessen ist.

Die schärferen Proben sind für die Zwecke der Praxis zu scharf und können daher irre führen.

Bei einer Rundfrage nach einem speziell den militärärztlichen Bedürfnissen entsprechenden Reagens ergaben sich folgende Antworten. Nach Fr. Kraus kommt man für klinische Zwecke mit der Kochprobe, der Hellerschen Schichtprobe und der Essigsäure-Ferrocyankaliumprobe vollständig aus. Von den sog. trockenen Reagentien sind gepulverte Citronensäure und Ferrocyankaliumtabletten brauchbar. Die β-Naphthalinsulfosäuretabletten soll man nicht direkt verwenden, sondern erst nachdem man sie gelöst hat. Das Verhältnis 0,2 g Reagens zu 5 ccm Wasser braucht nicht streng eingehalten zu werden. Das Optimum der Reaktion liegt bei 3—6 % der Lösung, wenn das Verhältnis 1 Teil Lösung zu 5 Teilen Harn genommen wird. Ist die Naphthalinsulfosäure rein, so löst sie sich unter 6 % stets klar bei 15°. — Landgraf empfiehlt die Naphthalinsulfosäuretabletten als ein brauchbares und einwandfreies klinisches Reagens. Auch E. Fischer hält diese Säure für recht brauchbar; ebenso Strunk und Budde[1]).

Salkowski[2]) empfiehlt zum Nachweis kleinster Eiweissmengen bei gleichzeitiger Gegenwart von sog. Mucin, wie es namentlich bei Scharlach in Betracht kommt, folgenden Weg: Man verdünnt den Harn bis zum spezifischen Gewicht 1007—1008, versetzt dann 100—200 ccm mit Essigsäure bis zur deutlich sauren Reaktion und lässt die trüb gewordene Flüssigkeit bis zum nächsten Tage stehen. Dann wird die klar gewordene Flüssigkeit abgehebert, abgegossen, eventuell auch abfiltriert. Fallen nun die oben erwähnten Proben negativ aus, so kann man einen solchen Harn als eiweissfrei bezeichnen.

4. Nachweis von Albumin als solchem. Man fällt aus Harn, der, wenn nötig, mit Alkalihydrat bis zur amphoteren oder sicherer bis zum Verschwinden der sauren Reaktion versetzt worden ist, das Globulin nach Hammarsten durch Sättigen desselben mit Magnesiumsulfat, fügt dem Filtrat reichlich Essigsäure zu und kocht. Ein dabei entstehender flockiger Niederschlag besteht aus Albumin (Hammarsten). Oder man macht nach Pohl[3]) den Harn mit Ammoniak schwach alkalisch, vermischt ihn mit seinem Volumen kalt gesättigter Ammonsulfatlösung und filtriert nach einstündigem Stehen. Tritt auf Zusatz von mehr Ammonsulfatlösung (bis mindestens zum 1,5 fachen Volumen des Harns) abermals ein Niederschlag auf, so kann das Albumin als nachgewiesen gelten. Doch ist in

---

[1]) Fr. Kraus, Landgraf, E. Fischer, Strunk und Budde, Veröffentlichungen a. d. Gebiete des Militärwesens. Heft 48. 1—61. 1911.
[2]) E. Salkowski, Char.-Ann. 30. 1906.
[3]) J. Pohl, Archiv f. exper. Pathol. 20. 426. 1886.

Digitized by Google

beiden Fällen eine Verwechslung mit Albumosen nicht ausgeschlossen (s. auch bei Globulin, sowie bei quantitativer Bestimmung).

Auch wird dabei nach Mörner[1]) ein kleiner Teil Albumin durch die im Harn vorhandenen eiweissfällenden Säuren mit abgeschieden, was jedoch für den qualitativen Nachweis des Albumins praktisch nicht in Betracht kommt.

Die Annahme, dass es sich bei der Albuminurie im wesentlichen um Übergang von Bluteiweisskörpern in den Harn handelt, ist durch die Untersuchung mit der „biologischen Reaktion" bestätigt worden. Es hat sich aber gerade mit dieser Reaktion auch zeigen lassen, dass auch andere Eiweisskörper (Nahrungseiweiss) in den Harn übergehen können.

Das Blutserum von Kaninchen, die mit menschlichem Blutserum oder Nephritisharn vorbehandelt sind, enthält Präziptine für menschlichen Eiweissharn bzw. menschliches Blutserum (Mertens, Zuelzer, Linossier und Lemoine, Dieudonné, Ascoli, Aschoff, Erben, Inouye, Leclainche und Vallée)[2]).

Durch diese biologische Reaktion lässt sich auch differenzieren, ob der im Harn vorhandene Eiweisskörper dem Serumalbumin oder Serumglobulin oder einem Gemenge beider entspricht.

Zur Unterscheidung von Eieralbumin von dem gewöhnlichen Harneiweiss (Serumalbumin) gibt Salkowski[3]) folgende Proben an:

1. Man versetzt den Harn mit so viel reiner HNO_3 (1,2 D), ohne zu erhitzen, dass eine starke Trübung resp. Fällung eintritt, alsdann mit dem der Mischung gleichen Volumen Alkohol: Der natürliche Eiweissharn wird klar, der eieralbuminhaltige trübt sich stärker, das Eiweiss oder ein Teil desselben scheidet sich in Flöckchen aus, welche die Flüssigkeit erfüllen. Bei längerem Stehen tritt oft stürmische Gasentwickelung ein, die die Flüssigkeit herausschleudert.

2. Man schüttelt den Harn mit dem gleichen Volum einer Mischung von 4 Vol. Äther und 1 Vol. Alkohol. Beim natürlichen Eiweissharn bleiben Harn und Äther ganz klar, nur an der Berührungsfläche findet sich meist ein leichtes Häutchen. Beim eiereiweisshaltigen Harn entsteht ein dicklicher, mit Luftblasen vermischter Brei, aus dem sich der Äther nur langsam ausscheidet, zwischen dem Harn und dem Äther bleibt eine dickliche Zwischenschicht. Der Harn selbst erscheint trüb;

---

1) K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv 6. 411.

2) Mertens, Deutsche med. Wochenschr. 161. 1901. — G. Zuelzer, Ebenda 219. — G. Linossier und G. H. Lemoine, Compt. rend. Soc. biol. 54. 276. 1902. — Dieudonné, Münchener med. Wochenschr. 533. 1901. — G. Ascoli, Ebenda 398. 1902. — L. Aschoff, The Lancet 1902. II. 651. — Fr. Erben, Zeitschr. f. klin. Med. 50. 457. 1904. — Inouye, Deutsches Archiv f. klin. Med. 75. 378. 1903. — E. Leclainche und H. Vallée, Compt. rend. Soc. biol. 53. 51. 1901.

3) E. Salkowski, Charité-Annalen 23. 4.

Digitized by Google

nach längerem Stehen (bis zum nächsten Tage) findet man eine Abscheidung von Eiweiss am Boden des Reagenzglases.

3. Man fällt aus 10 ccm Harn das Eiweiss durch 100 ccm Alkohol absol., filtriert nach $^1/_2$ Stunde ab und übergiesst das abgeschabte Eiweiss in einem Probeglas mit Wasser: das natürliche Eiweiss löst sich vollkommen klar auf, das Eieralbumin nicht oder doch nicht erheblich. Beim Erhitzen der Lösung des natürlichen Eiweiss mit Essigsäure und Zusatz von konzentrierter Kochsalzlösung scheidet sich das Eiweiss koaguliert aus. Vorausgesetzt ist, dass bei obigen Reaktionen der Gehalt des Harns an Eiereiweiss etwa 0,2% beträgt.

C. Abscheidung. Für manche Untersuchungen des Harns (z. B. zur polarimetrischen Zuckerbestimmung s. S. 419) ist es nötig, ihn vom Eiweiss (Albumin und Globulin) zu befreien, wenn er solches enthält. Es stehen dazu folgende Methoden zur Verfügung.

1. Das Albumin lässt sich zugleich mit dem Globulin bis auf sehr geringe, in gewissen Fällen für die weitere Untersuchung unwesentliche Bruchteile durch Kochen bei passend saurer Reaktion entfernen.

Reagiert der Harn von Haus aus stark sauer, so wird beim Kochen schon der grösste Teil des Eiweisses koaguliert; besitzt er eine nur schwach saure Reaktion oder ist er alkalisch, oder wird die vollständige Entfernung des Eiweisses beabsichtigt, so versetzt man den Harn, den alkalischen zuerst bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion, tropfenweise mit soviel Essigsäure, bis das Filtrat einer gekochten Probe auf Zusatz von Ferrocyankalium klar bleibt. Zur Koagulation taucht man das Reagenzglas mit der Probe in siedendes Wasser und kocht darnach noch auf. (S. auch bei quantitativer Bestimmung.)

2. Aus saurem Harn fällt das Eiweiss durch Zusatz von 3—4 Volumen starken Alkohols bis auf Spuren.

3. Das Albumin kann als solches zugleich mit dem Globulin durch Neutralsalze nach einer der S. 1086 angeführten Verfahrungsweisen vollständig abgeschieden werden, als Acidalbumin aber durch Neutralsalze und einen reichlichen Überschuss an Säure, wie S. 1111 näher angegeben.

Salkowski hat zur Abscheidung von Eiweiss aus eiweisshaltigen Flüssigkeiten überhaupt folgendes Verfahren als zweckmässig gefunden. Die Flüssigkeit wird auf 100 ccm mit 20 g gepulvertem Kochsalz, darauf mit dem doppelten Volumen einer Mischung von 7 Volumen gesättigter Kochsalzlösung und 1 Volumen 30%iger Essigsäure versetzt, wiederholt stark geschüttelt und nach 15—20 Minuten filtriert. Das Filtrat ist völlig eiweissfrei. — Einfacher ist es, nach E. Ludwig [1]) den Harn auf 100 ccm mit 10—15 ccm gesättigter Kochsalzlösung zu versetzen, ihn mit einigen Tropfen Essigsäure deutlich anzusäuern und über freiem Feuer aufzukochen.

4. Albumin, Globulin und ein Teil der Albumosen (wenigstens, wie es scheint, die Heteroalbumose) lassen sich vollständig durch Fällen

[1]) Salkowski, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1880. 689. — E. Ludwig, Wiener med. Jahrb. 1884. 606.

Digitized by Google

mit einem Metallsalz (Eisenoxyd, Kupfer, Blei etc.) in völlig neutraler Lösung abscheiden.

a) Schnell und in der Regel sicher führt die von Hoppe-Seyler angegebene Methode mit essigsaurem Eisenoxyd in der Modifikation von Schmidt-Mülheim und von F. Hofmeister zum Ziele. Nach Hofmeister wird dem Harn Natriumacetatlösung und darauf so viel konzentriertes Eisenchlorid zugesetzt, bis die Mischung eine blutrote Färbung angenommen hat. Die nun stark saure Flüssigkeit wird alsdann mit Alkalihydrat neutralisiert und aufgekocht. Nach dem Kochen reagiert die Flüssigkeit wieder sauer. Man setzt dann noch so viel Lauge hinzu, bis die Flüssigkeit gegen empfindliches Lackmuspapier amphoter reagiert (stärker sauer, als alkalisch), erhitzt zum Kochen und filtriert nach dem Erkalten. Ist die Fällung gelungen, so darf das Filtrat bei Zusatz von Essigsäure und Ferrocyankalium weder Reaktion auf Eiweiss noch auf Eisen geben. Der Zusatz von Acetat dient bloss zur Fällung eines etwa in Lösung bleibenden geringen Restes von Eisenoxydsalz als basisches Acetat, und bedarf es dazu auch nur einer geringen Menge von essigsaurem Natron. Spuren der Fällung entgehendes Eiweiss beseitigen Wassermann sowie Georges[1]) in der Weise, dass sie das Filtrat mit Essigsäure ansäuern, wenig Ferrocyankalium hinzufügen, nach mehrstündigem Stehen filtrieren, das überschüssige Ferrocyankalium mit essigsaurem Kupfer und den Überschuss von diesem mit Schwefelwasserstoff entfernen. — Auf zuckerhaltigen Harn ist das Verfahren nicht anwendbar, da dabei Eisenoxyd in Lösung bleibt. Auch bei zuckerfreiem Harn erhält man nicht immer Filtrate, welche mit Essigsäure und Ferrocyankalium keinen Niederschlag geben.

b) Der Methode a ganz ähnlich ist das von H. Ritthausen ursprünglich für die Fällung des Caseins aus der Milch angegebene, von J. Latschenberger und O. Schumann[2]) auf den Harn angewandte Verfahren. Es werden zu 1 Volumen Harn 2 Volumen kalt gesättigte Kupfervitriollösung und 2 Volumen Wasser hinzugefügt, die Mischung mit Natronlauge bis zur neutralen oder höchstens ganz schwach sauren Reaktion versetzt und nach einigem Stehen filtriert.

In beiden Fällen werden die Filtrate reicher an Salzen; dies wird vermieden nach der folgenden, gleichfalls von F. Hofmeister[3]) herrührenden Methode.

c) Ist der Harn reich an Albumin, so wird er zunächst nach C. 1. von der Hauptmasse des Eiweisses befreit, das Filtrat (mässig eiweisshaltiger Harn ohne Vorbereitung) mit essigsaurem Blei nahezu ausgefällt, filtriert und das Filtrat mit Bleihydrat einige Minuten im Kochen erhalten, wieder filtriert und die gewonnene Flüssigkeit mit Schwefelwasserstoff vom gelösten Blei befreit. Sie enthält von den zugesetzten Reagentien nur noch Essigsäure, die sich nötigenfalls durch Abdampfen entfernen lässt. Das Ausfällen des Harns mit essigsaurem Blei vor dem Kochen desselben mit Bleioxyd ist darum nötig, weil der Harn beim Kochen mit Bleihydrat direkt stark alkalische Reaktion annimmt und unter diesen Umständen noch Eiweiss in Lösung bleibt.

d) Nach Kowalewsky[4]) lässt sich das Eiweiss (aus serösen Flüssigkeiten) vollständig durch die gerade erforderliche Menge oder einen Überschuss von essigsaurem Uran fällen. Der Niederschlag löst sich etwas in Wasser, ferner in Mineralsäuren und organischen Säuren, leicht und volltsändig in 2%iger Essigsäure.

e) Alle diese Methoden werden in der Einfachheit der Ausführung und der Sicherheit des Resultates durch die von Devoto[5]) übertroffen. Man sättigt

[1]) Schmidt-Mülheim, Du Bois' Archiv f. Physiol. 1880. 33. — F. Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Ch. 4. 263. — M. Wassermann, De la peptonurie etc. Thèse. Paris 1885. 52. — Georges, Journ. de pharm. et de chimie [5] 14. 353; Zeitschr. f. analyt. Ch. 26. 668. 1887.

[2]) H. Ritthausen, Journ. f. prakt. Ch. 15. 329. 1877; Zeitschr. f. analyt. Ch. 17. 241. — J. Latschenberger und O. Schumann, Zeitschr. f. physiol. Ch. 3. 161. 1879.

[3]) F. Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Ch. 2. 288. u. a. a. O.

[4]) N. Kowalewsky, Zeitschr. f. analyt. Ch. 24. 551. 1885.

[5]) L. Devoto, Zeitschr. f. physiol Ch. 15. 465. 1891.

Digitized by Google

den Harn mit Ammoniumsulfat, indem man in demselben auf 100 ccm 75 g von dem feingepulverten Salz in gelinder Wärme unter fleissigem Rühren zur Lösung bringt und lässt die Flüssigkeit noch 30—40 Minuten in einem Dampftopf verweilen. Albumin und Globulin werden dabei unabhängig von der ursprünglichen Reaktion des Harns koaguliert, während Albumosen zwar auch gefällt werden, beim Auswaschen des salzreichen Niederschlages aber wieder in Lösung gehen.

f) Bei der Fällung des Harns mit Mercurinitrat nach Patein und Dufan (s. S. 1207) werden auch die Eiweisskörper, sowie die Albumosen wie Peptone entfernt. — Auch bei der Behandlung des Harns mit Bleiacetat (S. 1207) wird das Eiweiss mit gefällt.

5. Von den spezifischen Eiweissreagentien ist das Kaliumwismutjodid von Brücke, das Aseptol von Riegler zum Enteiweissen des Harns empfohlen worden. Phosphorwolframsäure schlägt alle Eiweisssubstanzen, mit Einschluss des Peptons, aus saurer Lösung nieder.

Vom Aseptol soll man 2—3 ccm zu 20 ccm Harn setzen. — Der Harn, welcher mit Phosphorwolframsäure ausgefällt werden soll, ist mit 0,1 Vol. Salzsäure zu versetzen; wird er bei der Fällung sehr verdünnt, so hat man sich zu überzeugen, dass auf nachträglichen Zusatz von Salzsäure kein Niederschlag mehr entsteht. Bei Gegenwart von Zucker wird das Filtrat blau.

6. Zur Enteiweissung des Harns zur nachfolgenden Untersuchung auf Albumosen bedienten sich Morawitz und Dietschy[1]) folgenden Verfahrens: 500 ccm mit saurem phosphorsaurem Kalium schwach angesäuerter Harn werden mit dem doppelten Volum 96%igem Alkohol im Wasserbad 5—6 Stunden bei einer Temperatur von 50—60° erhitzt. Nach dem Erkalten wird filtriert, das Filtrat bei 50—60° auf etwa 300 ccm eingeengt, dann nach Hinzufügen von wenig verdünnter Schwefelsäure (2 ccm auf 100 ccm Harn) mit Zinksulfat in Substanz gesättigt. Hierbei werden der Koagulation entgangene Globulinreste, sowie auch etwaige Reste anderer fällbarer Eiweisskörper entfernt. Der durch Zinksulfat erzeugte Niederschlag enthält auch eventuell vorhandene Albumosen, die aber nicht koaguliert, sondern nur niedergeschlagen sind. (Siehe bei Albumosen.)

7. Die Verfahren von Michaelis und Rona mittels Mastix[2]), Kaolin[3]), kolloidalem Eisenhydroxyd[4]) sind für den Harn für manche Zwecke wohl anwendbar.

Rona[5]) versetzt Harn mit $^1/_{10}$ Vol. von kolloidalem Eisenhydroxyd (Liquor ferri oxydati dialysat. — Der Liquor ferri oxychlorati Pharm. Germ. ist erst, nachdem man bis zur Chlorfreiheit dialysiert hat, anwendbar) und bekam so eiweissfreie, gut polarisierbare Filtrate.

---

[1]) Morawitz und Dietschy, Archiv f. exper. Pathol. u. Pharm. 54. 88. 1906.

[2]) L. Michaelis und P. Rona, Biochem. Zeitschr. 2. 219. 1907; 5. 365. 1907; 3. 109. 1907; 4. 11. 1907.

[3]) L. Michaelis u. P. Rona, Biochem. Zeitschr. 7. 329. 1908; 8. 356. 1908.

[4]) L. Michaelis u. P. Rona, Biochem. Zeitschr. 7. 329; 14. 476. 1908. — B. Oppler und P. Rona, Ebenda 13. 121. 1908.

[5]) Briefliche Mitteilung an Verf.

Digitized by Google

D. Quantitative Bestimmung.

I. Bestimmung des Gesamteiweisses.

1. Durch Koagulation bei geeignet saurer Reaktion und Wägen.

A. Nach Scherer-Huppert.

A. Prinzip. Es wird ein bestimmtes Volumen Harn, welchem der für die vollständige Koagulation des Eiweisses geeignete Grad der sauren Reaktion erteilt worden ist, zum Sieden erhitzt, das Koagulum auf einem trockenen und gewogenen Filter gesammelt, ausgewaschen, getrocknet und mit dem Filter wieder gewogen. Die Gewichtszunahme des Filters ergibt die Menge des Eiweisses, welches aus dem in Arbeit genommenen Volumen Harn abgeschieden wurde.

B. Ausführung. Man hat den Harn, wenn er trüb ist nach dem Filtrieren, mit so viel Essigsäure zu versetzen, dass das Filtrat einer gekochten Probe mit Essigsäure und Ferrocyankalium keinen Niederschlag mehr gibt. Man nimmt (für 2 Bestimmungen) 0,5—1 Liter in Arbeit und versetzt ihn, wenn er nicht schon sauer reagiert, tropfenweise bis zum völligen Verschwinden der alkalischen Reaktion mit starker (30 oder 50%iger) Essigsäure. Kleine Volumina Harn verdünnt man vor der Koagulation mit Wasser. Jetzt nimmt man die erste Reaktion vor. Man stellt dazu ein Reagenzglas mit einigen Kubikzentimetern Harn in siedendes Wasser, verschliesst das Glas, wenn die Koagulation eingetreten ist, und schüttelt auf. Beim Einfüllen der Probe in das Reagenzglas lässt sich ein Benetzen der oberen Wand nur schwer vermeiden; unterlässt man das Aufschütteln, so kann es geschehen, dass beim nachfolgenden Filtrieren Harn mit unkoaguliertem Eiweiss mit in das Filtrat gelangt, und man setzt sich so der Gefahr aus, Eiweiss im Filtrate zu finden, auch wenn der erhitzte Teil keines mehr gelöst enthält. Dann kocht man die Probe über freier Flamme, filtriert, nötigenfalls durch mehrmaliges Aufgiessen des Filtrats auf dasselbe Filter, und prüft das klare Filtrat in angegebener Weise. Ist, wie in der Regel, noch Eiweiss vorhanden, so versetzt man den Harn noch mit 1—2 Tropfen Essigsäure und stellt eine neue Probe an. Den weiteren Zusatz der Essigsäure bemisst man nach dem Grade, in welchem das Eiweiss im Filtrate abnimmt. Vermindert es sich nicht merklich, so setzt man dem Harn nicht nur einen Tropfen Essigsäure hinzu, sondern gleich mehrere, 3 bis 5, auf einmal. Nur gegen das Ende muss man mit dem Essigsäurezusatz vorsichtig sein. Übersäuert wird der Harn, wenn man nach dieser Vorschrift verfährt, nicht leicht. Die Verdünnung, welche der Harn durch den Zusatz von Essigsäure erfährt, ist eine so minimale, dass sie vernachlässigt werden kann; für 1 Liter

Digitized by Google

von Haus aus sauren Harn können 24—28 Tropfen 50%iger Essigsäure genügen.

Zur Koagulation misst man von dem Harn soviel in ein Becherglas ab, dass der Eiweissniederschlag womöglich nicht mehr als 0,2 bis 0,3 g beträgt, von eiweissarmen Harnen also 100 ccm, von eiweissreicheren entsprechend weniger. Nach einiger Erfahrung lernt man leicht den Eiweissgehalt eines Harns nach der im Reagenzglas vorgenommenen Probe annähernd schätzen. Man erhitzt dann den Harn erst in siedendem Wasser, bis sich Flocken abgeschieden haben, und kocht noch einmal vorsichtig, so dass die Flüssigkeit nicht überläuft, über freier Flamme auf. Es wird dann zuerst die Flüssigkeit durch ein bei 110—120° getrocknetes und nach dem Erkalten im Exsikkator gewogenes Filter aus aschefreiem Papier abgegossen, darauf der Niederschlag vollständig auf das Filter gebracht, mit heissem Wasser chlorfrei und dann noch mit Alkohol und mit Äther gewaschen. Zum Abreiben des an der Glaswand haftenden Eiweisses bedient man sich eines Glasstabs, über dessen Spitze ein kurzer Kautschukschlauch gezogen ist. Man tut gut, den Niederschlag in einem Zuge auf das Filter zu bringen, weil bei längerer Unterbrechung der Filtration die über der Flüssigkeit befindlichen Teile des Koagulums so fest auf der Glaswand auftrocknen, dass man grosse Mühe hat, sie wieder vollständig abzulösen. Nach vollständigem Auswaschen trocknet man das Filter wieder bei 110 bis 120° bis zur Gewichtskonstanz und wägt nach dem Erkalten abermals.

Für genaue Bestimmungen muss das Koagulum noch mit Alkohol und mit Äther von Fett befreit und der Aschegehalt des getrockneten Niederschlags bestimmt werden. Die Asche ist vom Gewicht der Trockensubstanz in Abzug zu bringen. Man nimmt das Veraschen in einem Platintiegel vor, den man, um das Überschäumen des beim Erhitzen stark aufquellenden Gerinnsels zu verhindern, anfangs nicht am Boden, sondern an der Wand erhitzt.

Bei guten Doppelbestimmungen brauchen die Resultate nicht mehr als um 1% des Eiweisses voneinander abzuweichen.

1. Die ältere, noch häufig gegebene und befolgte Vorschrift, ein abgemessenes Volumen Harn zum Kochen zu erhitzen und so lang mit verdünnter (2%-iger) Essigsäure zu versetzen, bis die Eiweissflocken scharf abgegrenzt und die Flüssigkeit zwischen den Flocken wasserklar ist, führt nicht zu genauen Resultaten. Die Eiweissmengen aus zwei so hergerichteten Proben stimmen nicht gut überein, und in den Filtraten ist in der Regel noch Eiweiss nachweisbar.

2. Es ist zweckmässig, das Filter sowohl leer wie mit dem Niederschlag in einem Glaswolltrichter zu trocknen. Das leere Filter nimmt so in einigen Stunden, das Filter mit dem Niederschlag, wenn dieser nicht übertrieben gross ist, schon in 24—30 Stunden konstantes Gewicht an, während das Trocknen des Niederschlags im Trockengläschen bis zu diesem Punkte ununterbrochen mindestens 8 Tage erfordert und das Papier dabei braun wird, also jedenfalls sein ursprüngliches Gewicht nicht behält. Verascht wird der Niederschlag mit dem Filter.

Digitized by Google

Durch das Waschen des Koagulums mit Alkohol und mit Äther entfernt man nicht bloss in dem Niederschlag etwa enthaltenes Fett und andere in diesen Lösungsmitteln lösliche Substanzen, sondern erreicht auch, dass sich der Niederschlag beim Trocknen nicht, wie der nur mit Wasser gewaschene, in eine hornartige Masse verwandelt, sondern locker bleibt, wodurch das Trocknen des Niederschlags sehr beschleunigt wird; überdem färbt sich auch ein so behandelter Niederschlag beim Trocknen weniger dunkel.

Bei vergleichenden Bestimmungen muss man die Niederschläge immer bei derselben Temperatur trocknen, weil bei relativ niederer Temperatur getrocknete Niederschläge in höherer Temperatur wieder Wasser abgeben, also leichter werden. Trocknet man ein und denselben Niederschlag bei verschiedenen Temperaturen, so ist es schwer, Gewichtskonstanz zu erlangen.

3. Um das zeitraubende Trocknen und wiederholte Wägen des Koagulums zu ersparen, sind verschiedene Vorschläge gemacht worden.

a) Nahe liegt der Gedanke, in dem ausgewaschenen Gerinnsel den Stickstoff nach Kjeldahl (s. dort) zu bestimmen und aus dem gefundenen Ammoniak oder Stickstoff die Eiweissmenge zu berechnen. Sebelien [1]) hat sich dieses Verfahrens in ausgedehntem Masse bedient. Die Genauigkeit der Bestimmung hängt aber u. a. davon ab, welchen Stickstoffgehalt man dem Eiweiss zuschreibt. Starke fand im Serumalbumin (des Menschen) 15,88 % Stickstoff, Hammarsten im Serumglobulin 15,85 %. Danach erhält man die Eiweissmenge, wenn man das Gewicht des gefundenen Stickstoffs mit 6,3 multipliziert.

b) Bornhardt bestimmt das Gewicht des ausgewaschenen Niederschlags mittels des Pyknometers. Das Verfahren setzt die Kenntnis der Dichte des koagulierten Eiweisses voraus; sie beträgt nach Bornhardt 1,314; danach würde 1 ccm Eiweiss 1,314 g wiegen, also 1,314—1,0 = 0,314 g mehr, als 1 ccm Wasser. Ein mit Eiweiss und Wasser gefülltes Pyknometer wiegt demnach mehr als ein bloss mit Wasser gefülltes. Die Gewichtszunahme des Pyknometers, dividiert durch 0,314, gibt die Anzahl Kubikzentimeter Eiweiss, welche in dem Pyknometer enthalten sind; da nun aber 1 ccm Eiweiss 1,314 g wiegt, so erfährt man das Gewicht des Eiweisses, wenn man die Kubikzentimeter Eiweiss (den vorher erhaltenen Quotienten) mit 1,314 multipliziert. Bezeichnet man die Gewichtsdifferenz zwischen dem Eiweiss und Wasser sowie dem bloss Wasser enthaltenden Pyknometer mit D, so erhält man also das Gewicht des vorhandenen Eiweisses nach $\frac{1,314\ D}{0,314} = 4,1847\ D$. Nach Stolnikoff [2]) ergab die Bestimmung des Eiweisses nach diesem Verfahren so geringe Unterschiede gegenüber den Wägungen, dass die Methode für klinische Zwecke brauchbar erscheint.

Bei dieser Bestimmung wird das Eiweiss ebenso koaguliert, wie für die direkte Wägung, aber das Koagulum darf nur mit heissem Wasser gewaschen werden; nach dem Waschen spritzt man das Eiweiss in ein Pyknometer, das einen weiten, nicht eingeschnürten Hals mit Marke haben muss und mit einem Glasstopfen verschlossen werden kann. Das Wasser, mit welchem das Pyknometer gewogen wird, sowie Eiweiss und Wasser, sollen bei den beiden Wägungen die gleiche Temperatur (20°) haben.

Ob diese Abänderungen bei der Leichtigkeit, mit welcher man die Eiweissniederschläge nach (2) trocken erhalten kann, bequemer sind als die Wägungsbestimmung und wesentlich Zeit sparen, ist doch wohl sehr zweifelhaft. Jedenfalls hängt aber die Dichte des Eiweisses und damit die Menge des nach diesem Verfahren bestimmten Eiweisses, wie bei der Bestimmung durch Wägen, von der Temperaturhöhe, bei welchem der Niederschlag getrocknet wird, und von der Dauer des Trocknens ab. C. Schmidt gibt die Dichte des in Lösung befindlichen

[1]) Sebelien, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. 135. 1889.

[2]) A. Bornhardt, Archiv f. klin. Med. **16**. 222; Ztschr. f. analyt. Ch. **16**. 124. — J. Stolnikoff, Petersburger med. Wochenschr. 6. 1876.

Digitized by Google

Eiweisses zu 1,2746 an, aus den Bestimmungen von Lohnstein ergibt sie sich zu 1,278 und Huppert und Záhor[1]) fanden sie im Mittel von 20 Bestimmungen zu 1,3747 (1 352—1,405).

4. Bernard[2]) empfiehlt bei einem ikterischen, harnsäurereichen Harn zuerst durch Versetzen mit Salzsäure und 24 stündiges Stehenlassen die Harnsäure vollständig auszufällen, alsdann die alkalisch gemachte Lösung mit Essigsäure wieder anzusäuern und nun erst das Eiweiss nach der bekannten Methode zu bestimmen.

B. Nach Devoto[3]).

In sauer reagierendem Harn wird in der Wärme auf 100 ccm 75 g Ammonsulfat aufgelöst und die Auflösung noch 30—40 Minuten in einem Dampftopf erhitzt. Man filtriert durch ein getrocknetes und gewogenes Filter, wäscht aus, trocknet und wägt; vom Trockengewicht wird die Asche abgezogen.

Das Verfahren hat vor dem von Scherer den Vorzug, dass das Eiweiss aus seinen Lösungen bei jedweder Reaktion vollständig abgeschieden wird; sauer soll der Harn sein, weil er dann die Phosphate in Lösung enthält. Während das Verfahren bei natürlichen Eiweisslösungen vorzüglich ist, besteht bei Harn die Gefahr, dass Harnsäure als Ammonurat mit ausfällt. Redelius[4]) erhielt aus eiweissfreien Harnen von 1,019—1,035 Dichte auf 100 ccm 0,0034—0,0275 g organische Substanz, aus Harnen von 1,0355—1,060 Dichte 0,073—0,1105; wenn der Niederschlag mit heissem Wasser noch einige Zeit nach dem Verschwinden der Schwefelsäurereaktion weiter ausgewaschen wird, kann die Menge der organischen Substanz noch vermindert werden. Vergleichende Bestimmungen nach Scherer und nach Devoto ergaben bei Devoto eine absolute Vermehrung von 0,013—0,077%. Der absolute Fehler bei Devoto ist also gering und in gewöhnlichen Fällen ohne Belang, kann aber bei eiweissarmen und konzentrierten Harnen erheblich werden.

C. Nach Jolles.

Nach Jolles[5]) versetzt man 100 ccm des gegebenenfalls mit Essigsäure neutralisierten Harns mit 5 ccm einer Mischung von 50 ccm 1%iger Essigsäure, 50 ccm käufliches Formol und 15 g NaCl und erhitzt ½ Stunde im kochenden Wasserbad, bis sich die über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit geklärt hat. Der Niederschlag wird auf ein gewogenes Filter gebracht, mit heissem Wasser,

[1]) C. Schmidt, Charakteristik der epidemischen Cholera, Leipzig und Mitau 1850. 26. — Th. Lohnstein, Pflügers Archiv **59**. 498. 1895. — Huppert und Záhor, Ztschr. f. physiol. Ch. **12**. 472. 1888.
[2]) M. Bernard, Pharm. Ztg. **4**. 286. 1902.
[3]) L. Devoto, Ztschr. f. physiol. Ch. **15**. 474. 1891.
[4]) H. Redelius, Upsala Läkareförenings Forh. **27**; Jahresb. 1892. 241.
[5]) A. Jolles, Ber. deutsch. pharm. Gesellsch. **18**. 598. 1909.

Digitized by Google

Alkohol, Äther gewaschen, bei 110° getrocknet und gewogen. Die Asche wird vom Eiweissgewicht in Abzug gebracht.

D. Nach Bellocq[1]).

100 ccm filtrierter Harn werden mit 1 g Calciumacetat und mit Ammoniak bis zur alkalischen Reaktion versetzt und so lange gekocht, bis der leichte Schaum beim Entfernen der Flamme sofort verschwindet. Man filtriert den Niederschlag von Eiweiss, Phosphat, Urat und Oxalat ab, spritzt in ein Glas und setzt 3 ccm HNO_3 zu, wobei die Salze gelöst bzw. zersetzt werden. Ist nach ½ Stunde die von Uraten herrührende Rötung verschwunden, so versetzt man mit Alkohol, wäscht den Niederschlag mit angesäuertem Alkohol aus, trocknet und wägt.

2. Andere Fällungsmethoden.

A. Lecerf[2]) fällt das Eiweiss aus 50 ccm Harn durch Kochen mit Natriumsulfat und Essigsäure (S. 1111), bestimmt in dem ausgewaschenen Niederschlag den Stickstoff nach Kjeldahl und berechnet das Eiweiss durch Multiplikation des Gewichts Stickstoff mit 6,24. — Der Niederschlag besteht aus Acidalbumin und geht beim Wegwaschen des Salzes wieder teilweise in Lösung. Der richtige Faktor, mit welchem zu multiplizieren wäre, ist 6,3 (S. 1129).

B. Girgensohn versetzt eine bestimmte Quantität Harn mit dem halben Volumen einer 20%-igen Kochsalzlösung und fügt darauf so viel Tanninlösung hinzu, als zur vollständigen Fällung des Eiweisses erforderlich ist. Man soll dann den Niederschlag auf einem gewogenen Filter erst mit destilliertem Wasser bis zum Verschwinden der Chlorreaktion und sodann mit kochendem Alkohol so lange waschen, bis sich in dem Filtrat kein Tannin mehr nachweisen lässt. Der Rückstand soll getrocknet und gewogen werden. In der vorliegenden Form ist das Verfahren für die Eiweissbestimmung schon darum nicht geeignet, weil nach Sebelien[3]) aus Lösungen von reinem Albumin Tannin zwar alles Albumin fällt, beim Auswaschen der Niederschläge mit Alkohol aber wieder stickstoffhaltige Substanz in Lösung geht. Nach Sebelien fällt man mit Alménscher Tanninlösung (S. 1116). in der Kälte und wäscht mit kaltem Wasser aus. Die Wägung des Niederschlags ist untunlich, weil der Niederschlag das Tannin in wechselnder Menge enthält. Aus dem nach Kjeldahl ermittelten Stickstoffgehalt des Niederschlags lässt sich die Eiweissmenge mit dem Faktor 6,3 berechnen, wenn man sicher ist, dass der Niederschlag ausser Eiweiss keine andere stickstoffhaltige Substanz (Harnsäure u. a.) enthält.

C. Nach Méhu setzt man zu 100 ccm Harn, die nicht mehr als 0,2—0,4 g Eiweiss enthalten dürfen, 2 ccm Salpetersäure und darauf 10 ccm einer Mischung von gleichen Teilen krystallisiertem Phenol und Eisessig mit zwei Teilen Alkohol von 90%. Man filtriert, wäscht zuerst mit Wasser, dem ½% Phenol zugesetzt ist, später mit alkoholhaltigem Wasser aus, trocknet bei 110° C, wägt und verascht. Das Phenol lässt sich aus dem Niederschlag wieder vollständig auswaschen (Boillat), die Trockensubstanz ist bloss Eiweiss. Méhu fand unter der Annahme, dass alles Organische Eiweiss sei, durchschnittlich 93% des Eiweisses wieder. — Prüfungen von Schacht ergaben, dass die Méhusche Methode, namentlich bei Harnen mit geringem Eiweissgehalt, gegenüber der Bestimmung nach Scherer-Huppert keinerlei Vorzüge hat. — Nach Reuss bilden sich (in serösen Flüssigkeiten) zwar schöne Flocken, die sich leicht abfiltrieren lassen, aber beim Auswaschen zu

[1]) H. Bellocq, Annal. chim. anlayt. appliq. **9**. 384. 1904.
[2]) Ch. Lecerf, Chem. Centralbl. 1888. 503; Ztschr. f. analyt. Ch. **28**. 134.
[3]) Girgensohn, Arch. f. klin. Med. **11**. 613. — Sebelien, Ztschr. f. physiol. Ch. **13**. **143**. 1889.

Digitized by Google

einer Gallerte aufquellen, welche zum Teil mit filtriert. — Nach Ruizand[1]) hat man beim Auswaschen mit Phenollösung um so grössere Verluste je konzentrierter die Phenollösung ist; bei Verwendung einer 3—4 %-igen wässerigen Phenollösung verliert man jedoch nur Spuren Eiweiss und der Niederschlag wird auch nicht schleimig.

D. Esbach versetzt 20 ccm Harn mit ebensoviel seiner Pikrinsäurelösung (s. S. 1116), erwärmt die Mischung im Wasserbad, filtriert, wäscht aus, trocknet und wägt; von dem Niederschlag werden 80% als Eiweiss gerechnet.

E. Nach Obermayer[2]) fällt man mit überschüssiger Trichloressigsäure, wäscht den Niederschlag mit säurehaltigem Wasser aus und unterwirft ihn einer sorgfältigen Extraktion mit Alkohol und mit Äther.

F. Nach Liborius versetzt man 50—100 ccm Harn in einem Becherglase mit dem 4—5 fachen Volumen Alkohol von 85 %. Nach 24 Stunden sammelt man den grobflockigen Niederschlag auf einem Filter, wäscht aus, trocknet bei 110—115° und wägt. Vom Trockengewicht ist noch die nicht unbedeutende Aschenmenge abzuziehen. — Wassiljew[3]) erwärmt den Harn mit 4—5 Vol. Alkohol 10 Minuten in heissem Wasser, filtriert heiss und wäscht den Niederschlag mit Alkohol; der Aschegehalt desselben beträgt nicht mehr als 1 %. — Liborius erhielt nach seinem Verfahren stets mehr Eiweiss, als nach dem von Scherer oder mit dem von Scherer im Wesen gleichen von Berzelius, offenbar, weil Eiweiss nicht die einzige organische Substanz ist, welche durch Alkohol aus dem Harn niedergeschlagen wird.

3. Indirekte Bestimmungsweisen.

Das Bedürfnis der Ärzte hat das Verlangen nach Methoden hervorgerufen, nach welchen sich das Eiweiss, wenn auch nicht so genau wie durch Wägen, doch schneller, mit weniger Hilfsmitteln und mit geringeren Ansprüchen an die technische Fertigkeit des Analytikers bestimmen lässt. Von den in Vorschlag gebrachten Methoden kommt die densimetrische in der Genauigkeit der Wägungsmethode am nächsten; sie erfordert aber sorgfältige Arbeit und braucht mehr Zeit, als eine der übrigen indirekten Methoden. Von den anderen geben die optische Methode von Christensen und das Verfahren von Roberts-Stolnikoff (Brandberg) Resultate von ungefähr gleichem Werte, beide sind aber noch weniger genau als die densimetrische Methode. Das Verfahren von Esbach ist zu Bestimmungen der absoluten Eiweissmenge überhaupt nicht zu brauchen, zu der der relativen Mengen aber auch nur dann, wenn es unter gleichbleibenden Bedingungen ausgeführt wird. Die Bestimmung aus der Abnahme des Stickstoffgehalts des

[1]) Méhu, Arch. gén. de méd., März 1869; Journ. de pharm. et de chim. 1869. 95; Ztschr. f. analyt. Ch. 8. 522. — Boillat, Journ. f. prakt. Ch. [2] **25**. 305. 1882. — Schacht, Arch. d. Pharm. **139**. 19. — A. Reuss, Arch. f. klin. Med. **24**. 584. 1879. — A. Ruizand, Journ. de pharm. et de chimie [5] **29**. 364; Chem. Zentralbl. 1894. **1**. 1100.

[2]) Fr. Obermayer, Wiener med. Jahrbücher 1888. 375; Jahresb. f. Tierch. **29**. 7. 1889.

[3]) P. Liborius, Arch. f. klin. Med. **10**. 319. 1874. — N. Wassiljew, St. Petersburger med. Wochenschr. 37. 1896; Jahresb. f. Tierch. 1897. 376.

Digitized by Google

Harns durch die Koagulation scheint brauchbar zu sein. Von den neuerdings empfohlenen Absatzmethoden scheint die von Tsuchiya klinisch am besten brauchbar zu sein. Wirklich exakte Werte liefern aber nur die gewichtsanalytischen direkten Bestimmungen. Bei grösserer Übung kann auch aus der Intensität der qualitativen Proben (Kochprobe, Heller, Ferrocyanwasserstoff) einigermassen die Menge des Eiweiss erschlossen werden.

A. Die densimetrische Methode.

A. Prinzip. Bestimmt man die Dichteabnahme, welche der Harn bei der Entfernung des Eiweisses aus ihm durch Koagulation (S. 1127) erleidet, so erfährt man, wieviel Gramm Eiweiss der Harn in 100 ccm enthalten hat, wenn man die Dichteabnahme mit 400 (Záhorscher Faktor) multipliziert.

Lang ist zuerst auf den Gedanken gekommen, es werde sich das Eiweiss des Harns aus der Dichteverminderung berechnen lassen, welche der Harn bei der Koagulation erfährt; der gefällten Eiweissmenge werde eine bestimmte Dichteverminderung entsprechen und mit dieser Verhältniszahl als Faktor sei dann der Dichteunterschied zu multiplizieren, um das Gewicht des Eiweisses zu erfahren. Lang, sowie Haebler und Bornhardt, welche die Angaben von Lang einer Prüfung unterzogen, nahmen den Faktor als konstant an. Budde wies aber aus der Theorie des Vorgangs nach, dass der Faktor von den Dichten der Flüssigkeit vor und nach der Entfernung des Eiweisses abhängig, also mit diesen Grössen variabel sei, was von Huppert und Záhor durch den Versuch bestätigt wurde. Huppert hat dann aus diesen Beobachtungen empirische Faktoren entwickelt, in welchen dem Einfluß der Anfangs- und der Enddichte Rechnung getragen wird. Spätere Untersuchungen von Záhor[1]) ergaben aber, dass für Harn, da bei dem geringen Eiweissgehalt des Harns die beiden Dichten nicht soweit auseinanderliegen, wie bei anderen konzentrierteren Eiweisslösungen, recht wohl ein konstanter Faktor anwendbar ist.

Aus den Beobachtungen von Lang berechnet sich der Faktor zu 367, Haebler hat ihn zu 210 gefunden, aus den Bestimmungen von Bornhardt ergibt er sich zu 435, aus denen von Budde im Mittel zu 421. Záhor nimmt ihn zu 400, Lohnstein[2]) zu 360 an. Die Unterschiede in der Grösse des Faktors sind, abgesehen von dem Haeblers, begründet in dem Grad der Genauigkeit, mit welcher die Dichteabnahme und die Eiweissmenge bestimmt und bei welcher Temperatur das Eiweiss getrocknet wurde. In den Beobachtungen von Záhor wurden die Dichten mit den Sprengelschen Pyknometer ermittelt und das Eiweiss mit aller Sorgfalt nach Scherer-Huppert bestimmt. Deshalb sei dem Faktor von Záhor der Vorzug gegeben. Das Eiweiss wurde von Záhor bei 120 bis 130° getrocknet und der Faktor gilt daher auch nur für solches.

B. Ausführung. Der Harn wird nach S. 1127 mit soviel Essigsäure versetzt, als zur vollständigen Fällung des Eiweisses beim Kochen erforderlich ist. Von dem so zur Koagulation hergerichteten

---

[1]) G. Lang, Orvosi Szemle (Ungarische med. Ztschr.) 2. Jahrg. 1862. — M. Haebler, Arch. f. Anat. etc. 1868. 397. — Bornhardt, Berlin. klin. Wochenschr. 34. 1869. 364. — Budde, Bibliothek for Laeger **20.** Januar 1870; Hospitals Tidende, 28 und 29. 1870. — Huppert u. Záhor, Ztschr. f. physiol. Ch. **12.** 467. — Záhor, das. **12.** 484.

[2]) Th. Lohnstein, Pflügers Archiv **59.** 479. 1895; **60.** 136.

Digitized by Google

Harn wird die Dichte bestimmt. Es wird ferner dieser vorbereitete Harn zum Kochen erhitzt, so jedoch, dass er dabei durch Verdunstung von Wasser keine Änderung seiner Dichte erleidet. Zu diesem Zwecke füllt man den Harn in eine Medizinflasche von 200—300 ccm Inhalt und bindet in sie einen weichen Kautschukstopfen so ein, wie die Korke in den Sodawasserflaschen befestigt sind; die Stopfen müssen vorher mit Natronlauge ausgekocht und darauf wieder bis zum völligen Verschwinden der alkalischen Reaktion gewaschen werden; die Flasche stellt man in ein Gefäss mit Wasser, bringt dieses zum Kochen, erhält 10—15 Minuten im Sieden und hebt die Flasche dann aus dem Wasser. Nach dem Erkalten wird, wieder unter Verhütung des Verdunstens, filtriert. Man hat dazu einen Trichter mit einem durchbohrten Kork in eine Flasche gepasst, in den Trichter wird ein Faltenfilter gelegt und der Trichter mit einer Glasplatte bedeckt gehalten. — Man kann den Harn auch in einem offenen Gefäss kochen, muss aber dann nach dem Erkalten das ursprüngliche Gewicht durch vorsichtigen Zusatz von Wasser wieder herstellen.

Die Dichte des für die Koagulation vorbereiteten Harns und die des Filtrats bestimmt man am sichersten mit einem Sprengelschen Pyknometer (S. 9), weil die Bestimmung um so genauer wird, auf je mehr Dezimalen man die Dichten sicher ermittelt hat. Bei Verwendung von Aräometern werden die Resultate minder genau. Die Aräometer, welche dazu gebraucht werden sollen, sind nur dann geeignet, wenn sie die Dichte bis auf die 4. Dezimale angeben und wenn sie geaicht sind. Lohnstein hat sich dazu seines Aräometers (S. 6) bedient. — Harn und Filtrat müssen bei der Dichtebestimmung dieselbe Temperatur haben.

Die 14 von Záhor untersuchten Harne enthielten im Mittel 0,3483% (0,0631—0,7634) Eiweiss. Die nach der densimetrischen Methode erhaltenen Resultate wichen von der Wägungsbestimmung um —0,0364 bis +0,0544 g oder im Mittel um 6,5% (0,9—24,6) ab; 9 mal betrug die Abweichung 0,9—4,3%, 1 mal 8,1, 3 mal 12,2 bis 13,7 und 1 mal, bei der kleinsten Eiweissmenge, 24,6%.

B. Aus der Abnahme des Stickstoffs bei der Koagulation.

Van Nuys und Lyons sowie Mann[1]) bestimmen in eiweisshaltigem Harn den Stickstoff nach Kjeldahl (S. 480), in einem

[1]) T. C. van Nuys u. B. E. Lyons, Amer. chem. Journ. **12**. 336; Chem. Zentralbl 1890. **2**. 121. — F. Mann, Ztschr. f. klin. Med. **20**. 107. 1892.

Digitized by Google

gleichen Volumen enteiweissten Harn gleichfalls und berechnen aus der Stickstoffdifferenz die Menge des Eiweisses, wozu der Faktor 6,3 zu verwenden ist (S. 1129). Die Genauigkeit der Bestimmung hängt u. a. ab von der Genauigkeit, mit welcher das Eiweiss aus dem Harn abgeschieden wird.

Van Nuys und Lyons fällen den filtrierten Eiweissharn mit dem gleichen Volumen Alménscher Tanninlösung (S. 1116) und verwenden ein abgemessenes Volumen Filtrat für die Analyse. Der eiweisshaltige Harn wird mit seinem Volumen Wasser verdünnt und dann ein ebenso grosses Volumen wie vom Filtrat nach der Eiweissfällung für die Analyse abgemessen. Van Nuys und Lyons multiplizierten die Differenz mit 6,37; es ergab sich gegen die Wägungsbestimmung ein durchschnittlicher (absoluter) Fehler von 0,0092 % bei einem Eiweissgehalt von 0,0506 bis 1,1293 %; der grösste Fehler betrug 0,0357 % bei einem Eiweissgehalt von 0,4399 %, der kleinste Fehler 0,0006 % bei einem Eiweissgehalt von 0,0506 % Eiweiss. Harnsäure wird auch aus harnsäurereichem Harn durch Alménsche Lösung nur in kleinen Mengen gefällt.

C. Refraktometrisch.

Ellinger[1]) verwendet das Oleorefraktometer von Amagat und Jean, ein Differenz-Refraktometer. Es wird der eiweisshaltige Harn und der durch Kochen bei passend saurer Reaktion vom Eiweiss befreite Harn nach Ersatz des beim Kochen verdunsteten Wassers untersucht. In das Prisma des Apparats kommt der eiweisshaltige, in das Gefäss mit den parallelen Glaswänden der enteiweisste Harn. Vorher war auf den Nullpunkt eingestellt, wozu beide Gefässe mit ein und derselben Flüssigkeit gefüllt waren. Bei der Verwendung der beiden Harne rückt die Grenzlinie zwischen hell und dunkel nach rechts, und der Grad dieser Abweichung vom Nullpunkt lässt sich an einer Skala ablesen. Ein Skalenteil gibt 0,106% Eiweiss an. Bei 5 Bestimmungen betrug der mittlere Fehler 0,008%, der grösste Fehler +0,017 und —0,020%.

Nach Riegler[2]) fällt man aus 50 ccm Harn (von eiweissarmem aus 100 bis 200 ccm) das Eiweiss durch Zusatz von 5 ccm saurer Asaprollösung (S. 1115), erwärmt auf 60°, wäscht den Niederschlag mit 150 ccm Wasser aus, presst ihn ab und löst ihn in 25 ccm $^1/_{10}$ n Kalilauge. Diese Lösung wird mit dem Refraktometer von Pulfrich untersucht. Um von der Temperatur unabhängig zu sein, wird sofort auch der Brechungsexponent der Lauge ermittelt. Wenn man die Differenz der beiden Brechungsexponenten in ganzen Zahlen ausdrückt, so beträgt sie für 1 g Eiweiss 540.

D. Die optische Methode.

Die optische Methode ist in verschiedener Form von Vogel, von Esbach und von Christensen auf die Bestimmung des Ei-

[1]) H. O. G. Ellinger, Journ. f. prakt. Ch. [2] 44. 256. 1881.
[2]) E. Riegler, Wiener med. Blätter 48. 1895; Jahresber. f. Tierch. 1895. 261.

Digitized by Google

weisses anwendet worden. Von diesen Verfahrungsweisen wurden nur die von Vogel und von Christensen einer eingehenderen Prüfung auf ihre Genauigkeit unterzogen.

1. Christensen [1]) schätzt die Eiweissmenge aus dem Trübungsgrad, welchen mit Gerbsäure versetzter Harn zeigt. Es wird immer dasselbe Volumen Harn mit Gummi- und Gerbsäurelösung versetzt und wieder auf ein anderes bestimmtes Volumen verdünnt. Die Gerbsäurelösung wird hergestellt durch Lösen von 1 Teil Tannin in 100 Teilen Wasser und, um sie haltbar zu machen, mit Borsäure gesättigt; die Gummilösung hält den Niederschlag suspendiert. Von der Mischung wird soviel in ein Glas mit Wasser gegossen, bis die schwarzen Striche, welche auf einem unter das Glas gelegten Papier gezogen sind, nicht mehr voneinander unterschieden werden können. Aus dem dazu verbrauchten Volumen Mischung ergibt sich der Gehalt des Harns an Eiweiss. Der Apparat, welcher von Cornelius Knudsen in Kopenhagen bezogen werden kann, ist auf p. m. Eiweiss geaicht. — Der Harn muss so sauer sein, dass sich das Eiweiss beim Kochen gut abscheidet. Der Kochsalzgehalt und die Temperatur haben keinen Einfluss auf das Resultat. Man kann die Bestimmung auch bei künstlicher Beleuchtung vornehmen.

Aus 31 Bestimmungen, welche Christensen mit Harnen anstellte, welche im Mittel 6,07 p. m. (0,9—23,2) Eiweiss enthielten, ergab sich ein mittlerer absoluter Fehler von 0,62 g im Liter (— 1,0 bis + 2,8) und ein mittlerer relativer von 12,2 % (0—40,0). Unter 31 Fällen wurde nur 6 mal zu wenig gefunden. Die Abhandlung enthält noch weitere Belege. — Wideroe [2]) kann die Methode nicht besonders empfehlen. Die von Walbum (s. unten) ist nach ihm vorzuziehen.

2. Vogels optische Methode. Man säuert den Harn schwach mit Essigsäure an, verdünnt gemessene Mengen von 4 oder 6 ccm etc. mit Wasser auf 100 ccm, erhitzt zum Sieden, kühlt rasch ab und prüft nun, ob der Lichtkegel einer Stearinkerze durch eine 6,5 cm dicke Schichte der Mischung noch sichtbar ist. Man wiederholt den Versuch bei verschiedenen Konzentrationen, bis man den Verdünnungsgrad getroffen hat, bei welchem das Flammenbild gerade verschwindet. Der Prozentgehalt des Harns an Eiweiss wird gefunden, wenn man mit der Anzahl der verbrauchten Kubikzentimeter Harn in die aus Wägungsbestimmungen von Dragendorff abgeleitete Mittelzahl, 2,3553, dividiert. — Dragendorff führte 35 vergleichende Analysen aus, 3 mal zeigten sich Differenzen von mehr als 0,1, 11 mal von mehr als 0,05, so dass also von 35 Analysen 21 bis auf 0,05 mit der gewichtsanalytischen Methode übereinstimmten. Masing [3]) erhielt in 7 vergleichenden Analysen Differenzen bis zu 20 %.

3. Nach demselben Prinzip bestimmte Esbach [4]) die Menge des im Harn enthaltenen Eiweisses nach der Stärke des mit seinem Reagens erzeugten Niederschlags. Den Hintergrund, nach welchem man zu blicken hat, bildet ein Blatt Papier, auf welches mehrere parallele ungefähr 1 mm breite Striche in kurzem Abstand voneinander gezogen sind. Dieser Hintergrund ist durch einen Schirm in eine linke und eine rechte Hälfte geteilt. Vor der linken Hälfte befestigt man ein oder zwei fein matt geschliffene Glastafeln (oder Milchglas); die schwarzen Striche erscheinen dann breiter und die weissen Zwischenräume verschmälert. Es wird weiter vor den Glastafeln ein Zylinder mit gelb gefärbtem Wasser (verdünntem

[1]) A. Christensen, Virchows Archiv 115. 132. 1889. — A. Christensen u. J. Mygge. Hospitals-Tidend. Kjobenhavn 1888. Jahresb. f. Tierch. 1888. 18. 314. S. Wideroe, Norsk. Magazin for Laegevidenskapen 69. 1082. 1908.

[2]) L. Wideroe, Norsk. Magazin for Laegevidens kapen. 69 1082. 1908.

[3]) A. Vogel, Arch. f. klin. Med. 3. 143. 1867; Ztschr. f. analyt. Ch. 7. 152. — E. Masing, Arch. f. klin. Med. 4. 229. 1868.

[4]) G. Esbach, Bullet. de Thér. Janv. 1874; Gaz. méd. de Paris 5. 1874; Dosage de l'alb. Paris, Doin, 1874.

Digitized by Google

Reagens) aufgestellt. Man misst dann in einen anderen Zylinder (ein langes dickwandiges Reagensglas) ein bestimmtes Volumen (1 ccm) Eiweisslösung von bekanntem Gehalt, setzt einige Kubikzentimeter des Esbachschen Reagens (10 g Pikrinsäure und 20 g Zitronensäure im Liter zu), schüttelt um und verdünnt die Mischung so lang, bis durch sie die Striche ebenso breit erscheinen, wie durch die Glastafeln und die gelbe Flüssigkeit. Man erfährt auf diese Weise, wieviel Eiweiss in dem gemessenen Gesamtvolumen Mischung enthalten ist. Nach dieser Eichung wird der Zylinder weiter geteilt, und zwar so, dass man sogleich den Gehalt des Eiweisses im Liter Harn ablesen kann. Bei der Ausführung der Bestimmung verfährt man wie bei der Eichung. Man verwendet zu einem Versuch 1 ccm Harn von mittlerem Eiweissgehalt, von eiweissärmerem mehr, von eiweissreicherem weniger. Nach Esbach ist diese Bestimmung bis auf 0,1—0,3 g Eiweiss im Liter genau. — Esbach hat das Verfahren noch in soweit abgeändert, als er die Harnprobe von vornherein zu stark, aber auf ein festes Volumen verdünnt und dann das Papier mit den Strichen so weit von dem Zylinder entfernt, dass die Striche ebenso breit erscheinen wie links. Die Strecke, um welche der Hintergrund verschoben wurde, bildet das Mass für den Eiweissgehalt.

4. Zu 100 ccm Harn fügt man nach Renard[1]) Jodquecksilberjodkaliumlösung und bringt die Flüssigkeit in ein graduiertes Reagenzglas, auf dessen Boden eine Emailplatte mit einem schwarzen Punkt sich befindet. Die Höhe der Flüssigkeit, bei der der Punkt eben nicht mehr sichtbar ist, gibt direkt den Eiweissgehalt an.

5. Das Verfahren von Walbum. Das Prinzip besteht darin, dass eine Eiweisslösung von Trichloressigsäure getrübt wird. Es wird Harn in einem besonderen Apparat (von Altmann in Berlin mit Gebrauchsanweisung zu beziehen) mit einer bestimmten Menge Reagens versetzt und dann mit einem Normalglas, das gleichgetrübtes Eiweiss aus Menschenserum enthält, verglichen. Wideroe fand das Verfahren brauchbar. Nach Pieper[2]) liefert dasselbe meist zu hohe Werte.

E. Verfahren von Roberts-Stolnikoff.

Das Verfahren ist gleichzeitig von Roberts und von Stolnikoff beschrieben worden. Hammarsten hat dann mit Brandberg[3]) und anderen seiner Schüler das Eiweiss im Harn sowohl nach dieser Methode als durch Wägung bestimmt und damit die Brauchbarkeit des Verfahrens für klinische Zwecke nachgewiesen.

A. Prinzip. Harn wird soweit mit Wasser verdünnt, bis eine Probe die Hellersche Eiweissreaktion (S. 1110) erst nach Ablauf einer bestimmten kurzen Zeit schwach, aber deutlich gibt. Nach Brandberg tritt die Reaktion in der angegebenen Stärke mit einer Eiweisslösung in 2—3 Minuten ein, wenn die Lösung $3^1/_3$ mg Eiweiss in 100 ccm enthält. Ist der Harn soweit verdünnt, dass er die Reaktion in derselben Zeit in gleicher Stärke gibt, so enthält er gleichfalls $3^1/_3$ mg in 100 ccm, woraus sich berechnen lässt, wieviel Eiweiss im ganzen

[1]) A. Renard, Mon. scient [4] **19**. II. 832. 1905.

[2]) L. E. Walbum, Deutsche med. Wochenschr. 34. 1728. 1908. Wideroe, Norsk Magazin for Laegevidenskapen. 69. 1082. 1908. — R. Pieper, Diss. Leipzig 1909.

[3]) W. Roberts, Med. chirurg. Transact. **59**. 148. — J. Stolnikoff, Petersburger med. Wochenschr. 12. 1876. — J. Brandberg, Jahresber. f. Tierch. 1880. 265. — Hammarsten, das. 1883. 217.

Digitized by Google

Volumen des verdünnten Harns enthalten ist. Dieselbe Menge Eiweiss enthält dann auch das zum Verdünnen verwendete Volumen Harn.

Musculus[1]) bedient sich desselben Prinzips, bestimmt aber die Eiweissmenge nicht nach dem Grade der Verdünnung, sondern nach der Zeit, in welcher der auf ein bestimmtes festes Volumen verdünnte Harn den Eiweissring zeigt. Musculus hat diese Zeiten für einen Eiweissgehalt von 0,01—0,20 p. M. angegeben.

B. Ausführung. Die Proben stellt man so an, dass man auf den Boden eines Reagenzglases mit einer Pipette, ohne die Wand zu benetzen, eine gegen 1 cm hohe Schicht konzentrierte Salpetersäure bringt und auf diese den verdünnten Harn schichtet. Man saugt dazu den verdünnten Harn in eine spitz ausgezogene Pipette, führt diese bis nahe zur Oberfläche der Salpetersäure und lässt nun den Harn langsam an der Wand des Reagenzglases herab auf die Säure fliessen, indem man die Pipette in dem Masse zurückzieht, als die Flüssigkeit steigt. Man lässt dabei und nachher das Reagenzglas im Gestell ruhig stehen. Dann beobachtet man mit der Uhr in der Hand, in welcher Zeit der weisse Streifen gegen einen dunklen Hintergrund schwach, aber deutlich sichtbar wird. Wie bemerkt, ist diejenige Verdünnung die richtige, bei welcher die Reaktion in 2—3 Minuten eintritt.

Die Genauigkeit des Resultats hängt wesentlich ab von der Art, wie man sich von der Gegenwart des Eiweissringes überzeugt, ob man das Glas, wie man nicht soll, gegen einen hellen, oder gegen einen dunklen Hintergrund beobachtet. Daraus, aus der verschiedenen Dicke der Schicht und aus noch anderen Umständen erklärt sich wohl auch, dass man nach Roberts bei einem Gehalt des verdünnten Harns von 3,4 mg, nach Stolnikoff bei einem solchen von 4 mg in 100 ccm die ersten Anzeichen einer Trübung in 35—40 Sekunden, eine deutliche Trübung nach $1\frac{1}{2}$ Minuten wahrnehmen soll.

Im weiteren unterscheidet sich die Ausführung nach der Art, wie die Verdünnung vorgenommen wird.

1. Nach Brandberg.

Die Verdünnung des Harns nimmt man in folgender Weise vor. Man verdünnt den Harn in einem Masszylinder zunächst auf das zehnfache; in der Regel erscheint dann der Ring zu früh. Dann misst man je 10 ccm Wasser in Reagenzgläser und lässt in das 1. Glas aus einer Burette 1 ccm, in das 2. Glas 2 ccm usf. von dem verdünnten Harn zufliessen und schüttelt um. Unter diesen Proben befinden sich zwei um 1 ccm verdünnten Harn unterschiedene, von welchen die eine den Eiweissring zu spät und die andere zu früh zeigt. Man nimmt dann zu den weiteren Proben von dem 10fach verdünnten Harn Volumina, welche zwischen den beiden so aufgefundenen Grenzwerten liegen und erfährt auf diese Weise das von dem 10fach ver-

[1]) Musculus, Jahresb. f. Tierch. 1880. 268.

Digitized by Google

dünnten Harn für die richtige Reaktion erforderliche Volumen auf Zehntel-Kubikzentimeter genau. Wieviel Gramm Eiweiss in 100 ccm enthalten sind, lässt sich nach der Formel $\frac{10 + V}{30\ V}$ berechnen, worin V das Volumen des 10fach verdünnten Harns bedeutet, welches zu 10 ccm Wasser hinzugesetzt werden musste. Waren von diesem z. B. 6,5 ccm für die richtige Probe erforderlich, so enthielt der Harn $\frac{16{,}5}{30 .\ 6{,}5} = 16{,}5 : 195 = 0{,}086$ g Eiweiss in 100 cc.

Es versteht sich von selbst, dass die Volumina möglichst genau, also mit der Bürette, abgemessen werden müssen.

Die Formel, mittels welcher der Eiweissgehalt des Harns berechnet wird, ergibt sich aus folgender Betrachtung. Wenn für den rechtzeitigen Eintritt der Reaktion 10 ccm Wasser mit V ccm 10 fach verdünntem Harn versetzt worden sind, so enthalten 10 + V ccm der Mischung V ccm verdünnten oder $\frac{V}{10}$ ccm und 100 ccm der Mischung $\frac{100\ V}{10(10 + V)} = \frac{10\ V}{10 + V}$ ccm unverdünnten Harn. In diesen 100 ccm der Mischung oder in $\frac{10\ V}{10 + V}$ ccm unverdünntem Harn sind $3\frac{1}{3}$ mg Eiweiss enthalten, in 100 ccm unverdünntem Harn demnach $\frac{1000}{3} \cdot \frac{10 + V}{10\ V}$ mg oder $\frac{10 + V}{30\ V}$ g Eiweiss.

Mittels der Methode von Brandberg wurden Werte erhalten, die den gewichtsanalytisch festgestellten ziemlich nahe stehen (Serkowski und Zieleniewski)[1].

Die Resultate fallen für klinische Zwecke hinreichend genau aus. In den 68 Bestimmungen von Hammarsten und seinen Schülern wich das nach diesem Verfahren erhaltene Resultat 48 mal um weniger als 0,05 g von der gewogenen Eiweissmenge ab, und 20 mal um mehr als 0,05 g; in 12 von diesen 20 Fällen erreichte der Fehler die erste Dezimale und einmal betrug er 0,3 g. In den 23 im einzelnen mitgeteilten Beobachtungen Brandbergs weicht die nach Roberts-Stolnikoff bestimmte Eiweissmenge im Mittel um 13,8% (0,2 bis 40,2) von der gewogenen ab.

Die von Hammarsten beobachteten starken Abweichungen bei nicht sehr grossem Eiweissgehalt beruhen nach ihm nicht sowohl auf einer fehlerhaften Anwendung der Methode, sondern hängen vielmehr von noch nicht genau erforschten Eigentümlichkeiten eines im Harn bisweilen auftretenden Eiweisskörpers ab.

[1]) St. Serkowski u. Zieleniewski, Przeglad lekarski. **47.** 613. 1908. Jahresb. f. Tierch. **38.** 323.

Digitized by Google

Carry[1]) empfiehlt das Verfahren von Brandberg, mit welchem man in $^1/_4$ Stunde den Eiweissgehalt bestimmen kann. Der Durchschnittfehler ist geringer als 5 cg pro Gramm Eiweiss.

Auch Högerstedt[2]) empfiehlt die Verdünnungsgrenze festzustellen, bei der die Hellersche Probe in 3 Minuten eben noch auftritt. Die Hellersche Probe gibt bei einem Eiweissgehalt von 1:30000 eine in der dritten Minute auftretende, eben noch wahrnehmbare Trübung.

2. Nach Mittelbach.

Mittelbach[3]) beabsichtigt mit seinem Verfahren nicht die genauen Werte für den Eiweissgehalt des Harns zu bestimmen, sondern nur Grenzwerte. Dieses abgekürzte Verfahren wird dem Praktiker genügen, die Veränderungen im Eiweissgehalt des Harns bei dem einzelnen Fall zu verfolgen. Als Massgefäss kommt ausser einem 100 ccm fassenden, in ganze ccm geteilten Zylinder eine 5 ccm fassende, in Zehntel-Kubikzentimeter geteilte Pipette in Verwendung. Eigenartig ist dem Verfahren ferner, dass der verdünnte Harn durch weitere Verdünnung noch zu einer zweiten Probe verwendet werden kann.

Zur Bestimmung braucht man die folgende Tabelle. In dieser gibt die Reihe I an, auf welches Volumen der Harn zu verdünnen ist; bei der Wahl der Harnmenge richtet man sich nach dem Ausfall der qualitativen Probe. Der Harn wird mit der Messpipette in den Messzylinder gemessen und der Zylinder bis zu dem angegebenen Volumen aufgefüllt; Zehntelkubikzentimeter Wasser setzt man aus einer gewöhnlichen Pipette zu, wobei man 2 Tropfen = 0,1 ccm rechnet. Für die zweite Verdünnung giesst man so viel Flüssigkeit aus dem Zylinder ab, dass der Rest das gewünschte Volumen ausmacht. Tritt die Hellersche Probe zu zeitig ein, so verdünnt man die Mischung noch einmal, indem man entweder zur nächsten horizontalen Reihe in der vertikalen Reihe II oder zur zweitnächsten horizontalen Reihe in der vertikalen Reihe III übergeht. Hat man z. B. (nach I Nr. 4) 3 ccm Harn auf 90 ccm verdünnt, so kann man von dieser Mischung entweder 60 ccm auf 90 ccm verdünnen (II Nr. 5) oder 40 ccm auf 90 ccm (III Nr. 6). Reihe IV gibt den Grad der Verdünnung und den Gehalt des Harns an Eiweiss in Grammen für 100 ccm an.

---

[1]) Carry, Lyon médical **100**. 630. 1903.
[2]) A. Högerstedt, St. Petersburger med. Wochenschr. **29**. 51. 1904.
[3]) F. Mittelbach, Prager med. Wochenschr. 1898. Nr. 30, 31.

Digitized by Google

No.	I. Harn	I. Volumen	II. Mischung	II. Volumen	III. Mischung	III. Volumen	IV. Verdünnung	IV. Eiweiss
1	1	1	—	—	—	—	0	0,003
2	30	90	—	—	—	—	3	0,01
3	6	90	20	100	—	—	15	0,05
4	3	90	50	100	10	100	30	0,10
5	2	90	60	90	30	90	45	0,15
6	1,4	94,5	60	90	40	90	67,5	0,22
7	1,1	89,5	75	90	45	81,4	81,4	0,27
8	0,9	87,5	75	90	50	72	97,2	0,32
9	0,6	70	75	90	60	86	116,6	0,39
10	0,6	87	64	80	48	72	145,0	0,49
11	0,5	91,1	64	80	50	62,5	182,2	0,60
12	0,4	87,5	75	90	60	90	218,7	0,73
13	0,4	97,2	72	80	60	80	243,0	0,81
14	0,3	81	72	80	60	74,1	270,0	0,90
15	0,3	90	72	80	60	74,1	300,0	1,00

Tritt in einer der Proben der Niederschlag rechtzeitig ein, so enthält der Harn diejenige Menge Eiweiss, welche in der zu der Verdünnung gehörigen horizontalen Reihe angegeben ist. Erscheint der Niederschlag in dem einen Fall zu früh, in dem anderen Fall zu spät, so liegt die Eiweissmenge zwischen den beiden in IV angegebenen Grössen als Grenzwerten; nach dem gewählten Beispiel würde der Harn also zwischen 0,10 und 0,15 oder 0,22 g Eiweiss in 100 ccm enthalten, je nachdem man nach Reihe II oder nach Reihe III weiter verdünnt hat.

Wenn die Reaktion bei der ersten Probe zu spät eintritt, so hat man eine konzentriertere Harnverdünnung herzustellen, tritt sie in beiden Proben zu zeitig ein, so muss man mit einer stärkeren Verdünnung von vorn anfangen. Mit der Tabelle kommt man für die gewöhnlichen Fälle aus. Enthält der Harn aber ausnahmsweise mehr als 1% Eiweiss, so hat man ihn von vornherein auf das Doppelte zu verdünnen und die Untersuchung in der angegebenen Weise auszuführen, dann aber auch den der Tabelle entnommenen Wert zu verdoppeln. Bei wiederholter Untersuchung des Harns eines Kranken vereinfacht und kürzt sich das Verfahren dadurch, dass aus den früheren Untersuchungen bereits bekannt ist, wieviel Eiweiss man ungefähr zu erwarten hat.

Digitized by Google

3. Methode von O. Mayer[1]).

Auf dem gleichen Prinzip beruht die von Mayer zur schnellen aproximativen Eiweissbestimmung im Harn angegebene Methode. 5 bis 10 ccm einer Lösung von 5 g Sublimat, 5 g Zitronensäure und 40 g Kochsalz in 500 ccm Wasser werden in konischen Gläsern vorsichtig aus fein ausgezogener Pipette mit etwa 5 ccm Harn überschichtet. Bei einer Verdünnung von 1:100000 entsprechend 0,001% Eiweiss bildet sich hierbei an der Grenze beider Flüssigkeiten nach etwa $1^1/_2$ Min. ein scharf begrenzter, weisslicher Ring. In eiweissreicherem Harn wird der Ring schon früher sichtbar. Man verdünnt in diesem Falle mit abgemessener Menge Wasser, bis die Reaktion in der angegebenen Zeit eintritt. Aus dem Verdünnungsgrade berechnet man nun den Gehalt an Eiweiss.

Die Methode soll, was Genauigkeit und Schnelligkeit anbetrifft, die Methode von Esbach übertreffen.

F. Absatzmethoden.

Prinzip. Aus der Höhe eines in bestimmter Weise erhaltenen Eiweissniederschlags wird nach einer empirischen Skala der Gehalt des Harns an Eiweiss geschätzt.

1. Verfahren von Esbach.

Seit die Kochprobe (S. 1106) zum Nachweis des Eiweisses im Gebrauch ist, hat man gehofft, aus der Höhe des dabei entstehenden Niederschlags die Eiweissmenge wenigstens annähernd schätzen zu können; aus J. Vogels Untersuchung hat sich aber ergeben, dass dabei Fehler bis zu 50% unterlaufen können; in 9 solchen Versuchen von Veale betrug der Fehler im Mittel 13,4% (6.3 bis 21,0) des Eiweisses. Die Ursache dieses Fehlers glaubte man darin suchen zu müssen, dass der Niederschlag nicht immer gleich dicht werde. Esbachs[2]) Bestreben ist nun dahin gerichtet gewesen, durch Anwendung eines besonderen Verfahrens den Niederschlag gleichmässiger zu erhalten.

Ausführung. Das Esbachsche Reagens, mit welchem das Eiweiss gefällt wird, ist eine Lösung von 10 g Pikrinsäure und 20 g Zitronensäure im Liter. Die Fällung wird vorgenommen in einem graduierten Rohr, dem Albuminimeter. Dasselbe hat die Gestalt eines Reagenzglases, ist aber stärker in der Wand, hat eine Länge von 15 cm und eine lichte Weite von 15—16 mm. Etwa 6 cm über dem runden

[1]) O. Mayer, Schweiz. Wochenschr. f. Chem. u. Pharm. **45**. 446. 1907. Chem. Zentralbl. 1907. II. 853.

[2]) H. Veale, Brit. med. Journ. 1884. I. 898. — G. Esbach, Bulletin de Thérap., Janv. 1874; Gazette méd. de Paris 5. 1874. 61; Dosage de l'alb. Paris, Doin, 1874; Dosage de l'albumine. 7. édit., Paris, Brewer frères, 1886.

Digitized by Google

Boden befindet sich ein mit U, 4 cm über U ein mit R bezeichneter Strich; ferner sind vom Boden aus bis zu einer Höhe von ungefähr 4 cm, mit 0,5, 1, 2 usw. numerierte Striche in nach oben immer geringer werdenden Abständen aufgetragen. Bis zur Marke U wird der Harn in den Zylinder gefüllt, so, dass der Strich den Scheitel des Meniscus tangiert, bis zur Marke R ebenso das Reagens. Dann schliesst man das Glas mit einem Kautschukpfropfen, kehrt es 10—12 mal um, ohne zu schütteln, und lässt es aufrecht in einem Gestell stehen. Nach 23—24 Stunden liest man die Höhe des Niederschlags an den mit den Zahlen versehenen Strichen ab; sie geben an, wieviel Gramme Eiweiss im Liter Harn enthalten sind. Diese Striche liegen nach oben immer näher aneinander, weil die unteren Eiweissschichten durch die auf ihnen lastenden zusammengedrückt werden und nun eine geringere Höhe einnehmen, als wenn sie sich allein abgesetzt haben. Die Zylinder müssen selbstverständlich rein und trocken gebraucht werden.

Bei der Ausführung des Verfahrens sind noch einige von Esbach aufgestellte Regeln zu berücksichtigen. Der Harn muss sauer reagieren; ist dies nicht der Fall, so säuert man ihn mit Essigsäure deutlich an. Seine Dichte soll ferner die von 1,006—1,008 nicht überschreiten; ist er zu konzentriert, so verdünnt man ihn entsprechend. Die Resultate fallen endlich auch genauer aus, wenn der Harn nicht über 4 g Eiweiss im Liter enthält; ergibt ein Versuch mehr oder deutet eine andere Probe auf einen stärkeren Gehalt, so wird der Harn gleichfalls entsprechend verdünnt; selbstverständlich kann man mit einem anscheinend zu eiweissreichen Harn zwei oder mehr Proben gleichzeitig ansetzen, eine mit unverdünntem und die andere mit verdünntem Harn. Nach Schulz, sowie nach Christensen[1]) ist die Temperatur von grossem Einfluss auf die Höhe des Niederschlags; sie ist bei niederer Temperatur erheblich grösser, bei höherer Temperatur erheblich kleiner als bei Zimmertemperatur, bei welcher die Probe angestellt werden soll.

Nach Johnson[2]) gibt eine Lösung bloss von Pikrinsäure, welche 11,43 g im Liter enthält, beiläufig dieselben Resultate, wie die zugleich Zitronensäure enthaltende Lösung von Esbach; bei Verwendung einer Lösung von Pikrinsäure allein mit 10 g im Liter, wie bei Esbach, ist der Niederschlag zu locker und die Schicht zu hoch, mit gesättigter Pikrinsäurelösung der Niederschlag zu dicht.

Verdünnt man einen Harn von der Dichte d auf das n fache, so hat er dann die Dichte $1 + \frac{d-1}{n}$; ein Harn, welcher z. B. die Dichte von 1,021 besass, zeigt, nach dem Verdünnen auf das 3fache die Dichte 1,007.

---

[1]) H. Schulz, Deutsche med. Wochenschr. 32. 1886. 558. — A. Christensen, Virchows Archiv 115. 131. 1889.

[2]) G. Johnson, Lancet 1886. II. 63.

Digitized by Google

Wie aus den aufgestellten Versuchsbedingungen hervorgeht, kommt für den richtigen Ausfall des Resultats sehr viel auf die Dichte der Flüssigkeit an, in welcher sich der Eiweissniederschlag zu Boden senkt. Wegen dieser Bedeutung der Dichte des Mediums ist das Verfahren daher auch nicht zur Bestimmung des Eiweisses in anderen Flüssigkeiten, z. B. in Transsudaten, verwendbar.

Noch bedeutender erweist sich aber der Einfluss der Temperatur. Dieser zeigte sich in den Versuchen von Schulz in der Weise, dass der Niederschlag, welcher bei 12—15° C ausgefallen war, eine 4,5—4,7 p. M. Eiweiss entsprechende Höhe einnahm, während der bei 2—4° entstandene Niederschlag 7,6—7,8, der bei 0° ausgefallene 7,0 p. M. Eiweiss angezeigt hätte. Christensen beobachtete, dass eine Probe, welche nach der Anzeige des Albuminimeters bei 15° 9 p. M. enthalten hätte, bei 35° in 1/2 St. auf 3, und in weniger als 2 St. auf 1,5 p. M. herabging. Eine bei 15° hingestellte Probe gab 3,5 p. M. Eiweiss an, während zwei andere bei 8,5—10° aufbewahrte Proben 5,5 und 6,6 p. M. Eiweiss zeigten. Der Einfluss der Temperatur ist nicht sowohl aus einer Änderung des spez. Gewichts, als vielmehr in einer Änderung der Viskosität (inneren Reibung) der Flüssigkeit zu suchen. Eine warme Flüssigkeit ist flüssiger als eine kalte und wird daher auch einem fallenden Körper leichter ausweichen und Platz machen, als eine kalte.

Nach Esbach ist das Verfahren für die eiweissarmen Harne bei febriler Albuminurie weniger geeignet, als für die eiweissreicheren bei Nephritis und bei Herzkrankheiten. — Mit Harn, der nach dem Gebrauch von Chinin, Thallin oder Antipyrin entleert war, erhielt Ritter keine günstigen Resultate.

Johnson, Schulz, Sokolow, sowie Geissler bezeichnen das Verfahren als brauchbar für die Zwecke des praktischen Arztes und Dillner, Veale, Ritter, Czapek sprechen sich auf Grund ihrer Untersuchungen gleichfalls günstig über das Verfahren aus. Christensen dagegen, Grutterink sowie Rössler[1]) verwerfen es.

In Dillners 35 Bestimmungen betrug der mittlere Fehler bei einem Eiweissgehalt des Harns von 0,05—2,13 % 0,054 g, der kleinste 0,002 g, der grösste, der aber nur 4 mal vorkam, 0,1 g. — Veale hat 10 Harne mit 4,06 p. M. (3,0—5,4) Eiweiss untersucht. Die Abweichung von den Wägungsbestimmungen waren positiv und negativ, schwankten zwischen — 0,8 und + 0,5 g im Liter und betrugen im Mittel 6,6 % (0—21,0) des gewogenen Eiweisses. — Ritter sowie Czapek erhielten nach Esbach stets weniger Eiweiss als durch Wägen, und zwar nahm der Fehler im allgemeinen mit der Menge des Eiweisses zu. In den 15 Fällen von Ritter enthielt der Harn im Mittel 0,127 % (0,022—0,34) Eiweiss. Die Abweichung betrug im Mittel 0,017 g (0,005—0,038) oder 16,2 % (5,9—28,6) des gewogenen Eiweisses. — Die 23 Harne, welche Czapek untersuchte, enthielten im Mittel 0,21 % (0,05 bis 0,52) Eiweiss. Der Fehler betrug im Mittel 0,045 g (0—0,16) Eiweiss oder 18 % (0—50) des gewogenen Eiweisses. — Christensen und Mygge haben denselben Harn, in welchem Christensen das Eiweiss dem Gewicht nach bestimmte, jeder für sich an einem anderen Ort nach Esbach untersucht, und zwar Christensen in 33, Mygge in 32 Fällen. Der Harn stammte von 8 verschiedenen Kranken und enthielt 0,4—8,9 p. M. im Mittel 3,57 (Christensen) und 3,95 (Mygge) Eiweiss. Bei Mygge betrug der Fehler im Mittel 0,95 g (— 3,5 bis + 1,3) oder 22,6 % (— 56,7 bis + 50,0), bei Christensen 0,86 g (— 1,7 bis + 3,4) oder 26,8 % (— 21,5

[1]) Sokolow, das. 1887. 223. — Th. Geissler, Berliner klin. Wochenschr. 51. 1889. — Hj. Dillner, Jahresb. f. Tierch. 1886. 226. — H. Veale, a. a. O. — S. Ritter, Beiträge zur quantitativen Eiweissbest. Diss. Breslau 1887. 37. — F. Czapek, Prager med. Wochenschr. 15. 1888. 128. — Alide Grutterink, Nederl. Tijdschr. voor Pharm. 6. 75; Chem Zentralbl. 1894. 1. 846. — O. Rössler, Apotheker-Ztg. 14 293; Chem. Zentralb. 1894. 1. 976.

Digitized by Google

bis + 75 %) des gewogenen Eiweisses. Diese Parallelbestimmungen nach Esbach hatten also ein sehr verschiedenes Resultat; die Unsicherheit des Ergebnisses geht noch deutlicher aus dem Umstand hervor, dass in 13 Fällen der Fehler bei Christensen positiv war, wo er sich bei Mygge als negativ ergeben hatte. Diese Verschiedenheiten haben ihren Grund hauptsächlich in der Ungleichheit der Temperatur, bei welcher die Versuche ausgeführt wurden. Der Umstand, dass von Ritter und von Czapek nach Esbach immer weniger Eiweiss gefunden wurde, ist vielleicht gleichfalls darin zu suchen, dass bei diesen Versuchen die Temperatur höher war, als sie sein sollte (bei Czapek 20°); oder darin, dass die Albuminimeter für Eiweiss geeicht waren, das bei niederer Temperatur getrocknet wurde, als in den Bestimmungen von Ritter und von Czapek. — Tsuchiya fand ebenfalls die Esbachsche Probe sehr wenig zuverlässig.

Für eine auch nur einigermassen befriedigende Bestimmung der absoluten Eiweissmenge ist das Esbachsche Verfahren also durchaus nicht brauchbar. Es lässt nur grobe Schätzungen zu, die kaum genauer ausfallen, als die Schätzung der Eiweissmenge nach der Höhe des bei der Kochprobe entstehenden Niederschlags. Wenn jedoch die Bestimmungen nach Esbach immer bei derselben Temperatur und unter Einhaltung der übrigen Regeln vorgenommen werden, so wird man erfahren können, ob der Eiweissgehalt eines Harns zu- oder abgenommen hat; vernachlässigt man die Temperatur, so kann es allerdings geschehen, dass man die Eiweissmenge gegen früher vermehrt findet, wo sie in Wirklichkeit vermindert ist und umgekehrt.

Die mit der Methode von Esbach erhaltenen Werte wichen nicht selten beträchtlich (oft um 50 %) von den gewichtsanalytisch festgestellten ab. Auch wenn die Harnproben bis zum spez. Gewicht von 1010 verdünnt wurden, wurden die Resultate nicht genauer (Serkowski und Zieleniewski)[1]).

Die Esbachsche Probe ist nach Schippers[2]) der Probe von Tsuchiya überlegen, zumal, wenn nichteiweissartige Fällungen durch Verdünnen umgangen werden.

Die kristallinischen Fällungen im Harn durch das Esbachsche Reagens sind der Pikrinsäure zuzuschreiben. Pikrinsäure (10 g pro Liter) mit Harn gekocht, gibt nach dem Erkalten einen kristallinischen Niederschlag, der ein Kreatininbipikrat ist (Mayerhofer)[3]).

Die Fehlerquellen der Esbachschen Probe liegen nicht im Zuckergehalt, sondern nach Pekelharing wahrscheinlich in Kolloiden, die nicht näher bekannt sind, die sich durch Dialyse nicht beseitigen lassen. In derartigen Fällen konnte durch Sieden mit ⅕ Volum starker Essigsäure die ausgiebigste Eiweissfällung mit Esbachs Verfahren erhalten werden (van der Harst)[4]).

2. Modifikation der Esbachschen Eiweissprobe von Kwilecki[5]). Der Harn wird in einem eigenen Apparate mit 10 Tropfen 10%-iger Eisenchloridlösung versetzt und dann mit dem Esbachschen Reagens. Stellt man dann in Wasser von 72°, so kann man schon nach 5—6 Minuten ablesen. Winiwarter empfiehlt diese Vorschrift.

[1]) St. Serkowski und Zieleniewski, Przeglad lekarski **47.** 613. 1908; Jahresber. f. Tierch. 38. 323.

[2]) J. C. Schippers, Zentralbl. f. inn. Med. **30.** 1001. 1909.

[3]) E. Mayerhofer, Wiener klin. Wochenschr. **22.** 90. 1909.

[4]) J. C. van der Harst, Pharm. Weekbl. **45.** 489. 1908.

[5]) Kwilecki, Münch. med. Wochenschr. **56.** 1330. 1909. — H. v. Winiwarter, Le scalpel et Liège méd. **62.** 92. 1909.

Digitized by Google

3. Schnellmethode zur Eiweissbestimmung von Aufrecht[1]). Die Methode beruht auf dem gleichen Prinzip, wie die von Esbach. Durch einen besonderen Apparat und Zuhilfenahme der Zentrifuge soll die Methode verfeinert und beschleunigt werden. Der Apparat besteht aus einem unten geschlossenen Reagenzrohr, das in seinem erweiterten oberen Teil die Marke R trägt, in dem engeren unteren Teil kommt zunächst die Marke U, dann folgen die Teilstriche 1,7%, 1,6% usw. bis 0,01%. 4 ccm des sauer reagierenden Harns und 3 ccm Reagens (1,5% Pikrinsäure und 3% Zitronensäure) werden in das Röhrchen gebracht, dieses mit einem Gummistopfen verschlossen, dann wird gemischt in eine Zentrifuge gebracht und nach 2 Minuten die Höhe des Niederschlages abgelesen. Verdünnen eiweissreicher Harne ist nicht erforderlich. Bei uratreichen Harnen sind die Werte etwas zu hoch. Die Werte sollen mit den gewichtsanalytischen fast absolut übereinstimmen. Die Niederschlagshöhe ist nach Aufrecht weder von der spezifischen Dichte, noch von der Temperatur abhängig, was einen grossen Vorteil gegenüber der Esbachschen Methode bedeuten würde. — Eine flockige Ausscheidung an der Oberfläche bei säure- und uratreichen Harnen findet nie statt.

Braungard hat einen ganz ähnlichen Apparat angegeben und ebenfalls mit der Zentrifuge die Probe rasch ausführbar gemacht. Die Werte sollen von den gewichtsanalytischen um höchstens 0,3% abweichen. Auch er benutzt Pikrin- und Zitronensäure.

Rüde[2]) versuchte die Esbachsche Methode durch Zuhilfenahme der Zentrifuge zu verbessern. Eine grössere Genauigkeit lässt sich nicht erzielen, wohl aber kommt man verhältnismässig rasch zum Ziel.

4. Verfahren von Tsuchiya.

Volumetrische Bestimmung mit Phosphorwolframsäure.

Der Harn wird in besonders graduierten Röhren (R. Schoeps, Halle a. S.) nach Filtration und Verdünnung bis zum spezifischen Gewicht 1006—1008 bis zur Marke U aufgefüllt, und dann bis zur Marke R das aus Phosphorwolframsäure 1,0 g, Salzsäure (Ac. Hydrochl. purum) 5,0 g, Alkohol (96%) 100,0 ccm bestehende Reagens zugesetzt. Nach 10—15 maligem vorsichtigem Umkehren und 24 stündigem Stehenlassen

[1]) Aufrecht, Deutsche med. Wochenschr. **35**. 2018. 1909. — K. Braungard, Chem.-Ztg. **33**. 942. 1909.

[2]) P. Rüde, Diss. Greifswald 1905.

Digitized by Google

kann der Eiweissgehalt an einer Skala abgelesen werden. Bei mehr als 0,6% Eiweiss muss der Harn entsprechend verdünnt werden. Die Methode soll erheblich bessere Werte geben, wie das Esbachsche Verfahren.

Das Reagens fällt nach Tsuchiya aus normalem Harn keinen Niederschlag aus; der Niederschlag in Eiweissharnen setzt sich regelmässig ab, es bilden sich keine Schaumbläschen. Beides sind Vorteile gegenüber dem Esbachschen Reagens.

Nach Engländer ist dieses Verfahren weniger zuverlässig, wie das gewichtsanalytische Verfahren. — Wideroe fand diese Probe genauer und zuverlässiger wie die Esbachsche Methode und namentlich bei minimalen Eiweissmengen noch brauchbar. — Schippers gibt der Esbachschen Methode den Vorzug vor der Probe von Tsuchiya, da letztere oftmals in eiweissfreien Harnen Purinkörperfällungen erzeuge und auch wegen der grobflockigen Fällung den Eiweissgehalt fast stets zu hoch anzeige, auch gehe die Mischung des Harns mit dem Phosphorwolframsäurereagens nur langsam vor sich. — Wolpe lobt das Verfahren sehr, während Pieper meist keine genauen Resultate fand. Tsuchiya[1]) benutzte zunächst die gewöhnlichen Esbachschen Röhrchen. Es hat sich aber gezeigt, dass zur Erzielung einer grösseren Genauigkeit eine besondere Eichung erforderlich ist.

5. Andere Absatzmethoden.

a) Buchner[2]) beschreibt ein Albuminimeter, dessen Konstruktion darauf beruht, dass wenn man filtrierten eiweisshaltigen Harn (8 ccm) zum Sieden erhitzt, dann einige Tropfen Salpetersäure und 2 ccm konzentrierte Kochsalzlösung hinzusetzt, das koagulierte Eiweiss sich in einer Stunde dicht und gleichmässig absetzt, so dass man ähnlich wie bei der Esbachschen Methode aus der Höhe des Niederschlages den Eiweissgehalt an einer empirischen Skala ablesen kann.

Das Verfahren eignet sich nach Buchner für Harne mit 0,1—3% Eiweiss. Nach Engels ist die Methode bei Harnen mit weniger wie 0,3% Eiweiss genauer wie die Esbachsche Methode, bei Harnen mit mehr Eiweiss ungenauer.

b) v. Hoesslin[3]) empfiehlt folgendes Verfahren: 10 ccm Harn werden gekocht, nach Zusatz einiger Tropfen Essigsäure in ein auf 10 ccm geeichtes Zentrifugierröhrchen gebracht, das in $^1/_{10}$ ccm eingeteilt ist, so dass jeder Teilstrich $^1/_{10}$ ccm entspricht. Der unterste Teil des Röhrchens ist so ausgezogen, dass man noch

---

[1]) J. Tsuchiya, Zentralbl. f. inn. Med. **29**. 105 und 605. 1908. — M. Engländer, ebenda 265. — Wideroe, Nork Magzin for Laegeridenskapen **69**. 1082. 1908. — J. C. Schippers, Nederl. tiydschr. v. Geneesk. 1909. II. 922. Zentralbl. f. inn. Med. **30**. 1001. 1909. — Wolpe, St. Petersburger med. Wochenschr. 1909. 37. — R. Pieper, Diss. Leipzig 1909.

[2]) G. Buchner, Münch. med. Wochenschr. **53**. 1178. 1906. — W. Engels, ebenda **54**. 1481. 1907.

[3]) R. v. Hösslin, Münchn. med. Wochenschr. **56**. 1673. 1909.

Digitized by Google

0,01 ccm ablesen kann. Die saure Flüssigkeit wird in diesem Rohre zentrifugiert. $^1/_{10}$ ccm des Niederschlages entspricht nach Kontrollversuchen ungefähr 0,01 % gewichtsanalytisch bestimmtem Eiweiss. Bei grösserem Eiweissgehalt ist der Harn zu verdünnen.

c) Verfahren von C. W. Purey [1]). 10 ccm Harn werden mit 2 ccm 50 %-iger Essigsäure und 3 ccm einer 10 %-igen Kaliumferrocyanidlösung gemischt, in eine besonders graduierte Röhre eingefüllt und nach 10 Minuten zentrifugiert. Der Prozentsatz wird dann aus dem Volum abgelesen.

d) Verfahren von Rössler [2]). Harn (bei hohem Eiweissgehalt zu verdünnen) wird vorsichtig auf 5 ccm verdünnte Essigsäure geschichtet, der 3 Tropfen einer von Jolles angegebenen Mischung (Bernsteins. 2,0 g, Sublimat 1,0 g, Kochsalz 0,1 g, Wasser 50 ccm) zugefügt sind. Die Höhe der entstehenden weissen Zone wird mit dem Zirkel gemessen und entspricht dem Eiweissgehalt.

e) Verfahren nach Prescher [3]). In einem besonders konstruierten Reagenzglas (Eprouvette mit flach trichterförmigem Ansatz) wird die Salpetersäureschichtprobe ausgeführt, aus der Höhe der Zone kann auf den Eiweissgehalt (schwach, mittelstark, stark, sehr stark) geschlossen werden.

G. Andere indirekte Methoden.

1. Die polarimetrische Bestimmung führt nur zu ungenauen Resultaten, weil der Harn bei Albuminurie in der Regel zwei verschiedene Eiweisskörper mit verschiedener spezifischer Drehung, nämlich $[\alpha]_D = -63{,}6$ für das Albumin und $[\alpha]_D = -47{,}8$ für das Globulin nebeneinander enthält und weil der Harn Eigendrehung besitzt. Die Grenzen der Fehler, welche durch die Gegenwart dieser zwei Eiweissubstanzen in einem optisch inaktiven Lösungsmittel bedingt sind, lassen sich von vornherein feststellen. Bezieht man die beobachtete Drehung auf Albumin, so ist die Bestimmung selbstverständlich richtig, wenn die Lösung bloss Albumin enthält; wäre dagegen bloss Globulin zugegen, so fände man für 1 Albumin nur $\frac{47{,}8}{63{,}6} = 0{,}7516$ Eiweiss, also 24,84 % zu wenig. Der Fehler in der Albuminbestimmung bewegt sich also zwischen 0 und 24,84 %. Es liesse sich nun die Berechnung mit dem Mittel der beiden spezifischen Drehungen, — 55,7, vornehmen; dann würde, wenn die Lösung nur Albumin enthielte, 14,18 % zuviel, und wenn sie bloss Globulin enthielte, 14,18 % Eiweiss zu wenig gefunden; der Fehler liegt also zwischen — 14,18 und + 14,18 %.

Der eiweissfreie Harn dreht nun gleichfalls links; betrüge die Drehung $\alpha_D = 0{,}1$ und berechnete man das Eiweiss mit der Drehungskonstante für das Albumin, so fände man 0,16 g und bei der Berechung mit der mittleren Drehung 0,18 g Eiweiss in 100 ccm zuviel.

Man könnte daran denken, die beiden Eiweisskörper unter Berücksichtigung der Eigendrehung des Harns gesondert polarimetrisch zu bestimmen; allein auch so gelangt man nicht zum Ziele, weil sich nach Hupperts Erfahrungen die Eigendrehung des Harns bei der Abscheidung des Eiweisses ändert und zwar bei den verschiedenen Fällungsweisen in verschiedenem Grade (S. 1153).

2. Die massanalytische Methode von Bödeker beruht darauf, dass Albumin in essigsaurer Lösung durch Ferrocyankalium vollständig gefällt wird. Das Verfahren gibt nach Neubauer nur annähernde Resultate. Auch Thomas [4])

[1]) C. W. Purey, New York med. Journ. 1899. 17. Juni. Jahresb. f. Tierch. **30**. 332. 1900.

[2]) O. Rössler, Deutsche med. Wochenschr. **29**. 335. 1903.

[3]) J. Prescher, Chem.-Ztg. **25**. 728. 1903.

[4]) Bödeker, Ann. d. Chem. u. Pharm. **111**. 195. — L. Thomas, Schmidts Jahrb. **120**. 171.

Digitized by Google

hat gefunden, dass wenn der Eiweissgehalt nicht 1,5—2 % beträgt, die Resultate gänzlich unbrauchbar sind. In allen Fällen, wo der Eiweissgehalt nur gering war, fand Thomas nach Bödekers Methode oft sehr viel mehr Eiweiss als durch Wägung.

3. Tanret verwendet zur Bestimmung des Eiweisses eine Lösung von 3,32 g Jodkalium und 1,35 g Quecksilberchlorid in 100 ccm Wasser (S. 1119). Es werden 10 ccm Harn mit 2 ccm Essigsäure vermischt und das Reagens der Flüssigkeit tropfenweise zugesetzt. Sobald der Niederschlag bleibend wird, prüft man von Zeit zu Zeit, ob ein Tropfen derselben auf einer Porzellanplatte mit einem Tropfen 1 %-iger Quecksilberchloridlösung einen gelben Niederschlag gibt; geschieht dies, so ist die Fällung vollendet. Von der verbrauchten Tropfenzahl zieht man 3 ab; so viel Tropfen übrig bleiben, so viel mal 0,5 g Eiweiss ist im Liter enthalten. Das Reagens fällt ausser Eiweiss auch andere Harnbestandteile. Stephen[1]) hat das Verfahren aufs Neue vorgeschlagen.

Venturoli[2]) verwendet dasselbe Prinzip in anderer Form. Er versetzt 5 ccm Harn mit 6 ccm einer 0.5 %-igen Jodkaliumlösung als Indikator und einem Tropfen Essigsäure und titriert dann mit einer 1 %-igen Quecksilberchloridlösung bis zum Auftreten eines gelbroten Niederschlags von Quecksilberjodid. Von den bis dahin verbrauchten ccm Quecksilberlösung wird 1 ccm abgezogen; der Rest gibt, mit dem empirischen Faktor 0,0245 multipliziert, die Menge des Eiweiss in g.

4. Klug[3]) bestimmt den Gehalt einer Eiweisslösung oder Harn durch spektrophotometrische Messung der Biuretfärbung. Es sollen 4 ccm der Lösung mit 2 ccm konzentrierter Natronlauge und 4 Tropfen 10 %-iger Kupfersulfatlösung versetzt und die Mischung filtriert werden; die Spektrophotometrie wird in der Spektralgegend D 75 E — E vorgenommen. Klug hat die Extinktionskoeffizienten für verschiedene Eiweissarten angegeben.

5. Verfahren von Jolles[4]). Das Verfahren beruht auf der Voraussetzung, dass durch Oxydation mit Permanganat in saurer Lösung der Stickstoff der Eiweissstoffe in eine Form übergeführt wird, dass er bei der Behandlung mit unterbromigsaurem Natrium als Gas entwickelt wird. Es wird das Eiweiss zunächst durch Koagulation in der Hitze mit Essigsäure und Kochsalz abgetrennt und dann das Koagulum der Oxydation unterworfen. Das Gewicht des entwickelten Stickstoffs mit 7,68 multipliziert ergibt die Menge des Eiweiss. Die Angaben von Jolles über das Verhalten des Eiweiss bei der Oxydation mit Permanganat in saurer Lösung haben sich als irrig herausgestellt. Es sind damit die Voraussetzungen, auf denen diese Methode beruht, hinfällig geworden.

6. Verfahren von Denigès[5]). Das Verfahren von Denigès beruht auf folgender empirischer Grundlage. Fügt man zu 10 ccm $^1/_{10}$ n-KCN-Lösung 10 ccm Kaliumquecksilberjodidreagens, ferner 10 ccm NH_3, 100 ccm Wasser und dann tropfenweise $^1/_{10}$ n-$AgNO_3$-Lösung, so tritt erst bei Zusatz von 4,8 ccm $AgNO_3$-Lösung eine bleibende Trübung von AgJ auf. Fügt man zu einer Eiweisslösung bei essigsaurer Reaktion das Kaliumquecksilberjodidreagens, filtriert von dem Eiweissniederschlag ab, setzt dann Kaliumcyanidlösung und NH_3 hinzu und titriert

[1]) Ch. Tanret, Bull. de thérap. 7. 1877; Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1877. 493. — N. Stephen, Lancet 1882. II. Nr. 15; Ztschr. f. analyt. Ch. **23**. 116.

[2]) F. Venturoli, L'Orosi **13**. 255. Chem. Zentralbl. 1890. **2**. 525.

[3]) F. Klug, Zentralbl. f. Physiologie 8. 227. 1893.

[4]) A. Jolles, Monatsh. d. Chem. **23**. 589. 1902; Ztschr. f. analyt. Ch. **41**. 589. 1903.

[5]) G. Denigès, J. Pharm. Chim. [6] **10**. 117. 1899.

Digitized by Google

nunmehr mit $AgNO_3$-Lösung, so tritt schon früher wie bei 4,8 ccm die Jodidtrübung auf. Aus der Differenz der gefundenen Werte lässt sich auf empirischer Grundlage die Eiweissmenge berechnen. Eine praktische Verwendung und Prüfung hat diese Methode nicht erfahren.

7. Kohler versuchte durch Bestimmung der Leitfähigkeit bei verschiedenen Graden der Verdünnung nach dem Vorschlag von Wasmuth[1]) den Eiweissgehalt des Harns festzustellen und erhielt ähnliche Werte wie nach Esbach.

II. Gesonderte Bestimmung des Globulins und Albumins.

1. Nach Hammarsten[2]).

A. Prinzip. Sättigt man Harn bei amphoterer oder besser schwach alkalischer Reaktion mit Magnesiumsulfat, so fällt alles Globulin aus (S. 1159). Der Niederschlag wird mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung albuminfrei gewaschen, zur Koagulation des Globulins auf 110° erhitzt, vom Magnesiumsulfat durch Waschen befreit, getrocknet, verascht und das Gewicht der Asche vom Trockengewicht abgezogen. Bestimmt man in einer Probe zugleich das Gesamteiweiss, so lässt sich auch der Gehalt des Harns an Albumin berechnen. Von Hammarsten ausgeführte Kontrollbestimmungen ergaben sehr befriedigende Resultate, aus Harn wird jedoch nach Mörner[3]) beim Sättigen desselben mit Magnesiumsulfat ein Teil des Albumins als mucinähnliche Substanz gefällt.

Wurde reines Serumalbumin, welches durch Sättigen seiner Lösung mit Magnesiumsulfat bei 30° nicht gefällt wurde, neutralem oder schwach alkalischem Harn zugesetzt, so wurde es durch das Bittersalz niedergeschlagen, bei einem Gehalt des Harns von 0,06 % Albumin vollständig, nach Zusatz von 0,17 % zum grössten Teil. Aus einem bei Phosphorvergiftung entleerten Harn konnten so selbst 0,55 % Eiweiss bis auf eine geringe Menge gefällt werden.

B. Ausführung. Der Harn darf nicht stark sauer reagieren, weil in diesem Fall nach Ott[4]) durch das Magnesiumsulfat, noch leichter in der Wärme als in der Kälte, auch Albumin gefällt und die Bestimmung falsch wird. Man versetzt daher den Harn bis zum Verschwinden der sauren Reaktion mit Natron- oder Kalilauge, lässt einige Zeit stehen und filtriert einen entstandenen Phosphatniederschlag ab. Ist der Harn reich an Uraten, so kühlt man ihn nach Hammarsten vorher einige Stunden auf + 2 oder + 1° ab und filtriert von den ausgefallenen Uraten ab. Von dem so vorbereiteten Harn misst man je nach dem Eiweissgehalt 25—100 ccm in ein Becherglas ab, versetzt ihn auf 100 ccm mit 120 g fein gepulvertem und gesiebten krystallisierten Magnesiumsulfat und lässt ihn unter häufigem Umrühren stehen, bis sich das am Boden liegende Salz ganz oder bis auf einen kleinen gleichbleibenden Rest gelöst hat. In der Kälte sind dazu

[1]) R. Kohler, Ztschr. f. klin. Med. **65**. 135. 1908. — A. Wasmuth, Sitzungsber. Kais. Akad. d. Wissensch. Wien. Math.-naturw. Klasse III. **114**. 83. 1906.

[2]) O. Hammarsten, Pflügers Archiv **17**. 431 u. 447; **22**. 437 u. briefliche Mitteilung.

[3]) K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv **6**. 411. 1895.

[4]) Ad. Ott, Prager med. Wochenschr 1884. 153.

Digitized by Google

mehr als 24 Stunden erforderlich, in der Wärme, bei 40° (in einem Wasserbad) geht die Lösung des Salzes schneller von statten; eine warm gesättigte Lösung muss man vor dem Filtrieren erkalten lassen, damit überschüssig gelöstes Salz auskrystallisiert. Beim Umrühren ist die Bildung von Schaum möglichst zu vermeiden.

Nach erfolgter Sättigung des Harns mit dem Salz bringt man die Flüssigkeit mit den Globulinflocken auf ein aschefreies, bei 110° (in einem leeren Glaswolltrichter) getrocknetes, gewogenes Filter, das vorher mit gesättigter Bittersalzlösung befeuchtet worden ist, rührt dann das rückständige Salz wiederholt mit gesättigter Bittersalzlösung auf und bringt auch diese Lösung auf das Filter, bis die Magnesiumsulfatlösung nach dem Verrühren mit dem Salzbodensatz klar bleibt. Das Filter darf dabei nicht bis zum Rande gefüllt werden. Man wäscht darauf das Filter so lange mit gesättigter Bittersalzlösung, bis das Filtrat weder bei Erhitzen für sich, noch unter Zusatz von Essigsäure getrübt wird, und stellt den Trichter samt dem Filter mehrere Stunden in einen auf 110° angeheizten Trockenkasten, wäscht das Filter erst mit heissem Wasser schwefelsäurefrei, dann noch mit Alkohol und Äther, trocknet es bei 110° bis zur Gewichtskonstanz und wägt es nach dem Erkalten im Exsiccator. Es ist dann noch die dem Niederschlag beigemengte Mineralsubstanz zu bestimmen; zu diesem Zwecke brennt man Filter samt Niederschlag in einem gewogenen Platintiegel weiss und wägt nach dem Erkalten im Exsiccator. — Bei dem Verfahren tritt leicht die unangenehme Störung ein, dass sich das Filter beim Auswaschen mit der gesättigten Bittersalzlösung durch auskrystallisierendes Salz völlig verstopft, wodurch die Analyse verloren geht.

Kamenski[1]) löst den ausgewaschenen Niederschlag in Wasser und koaguliert das Globulin durch Kochen.

2. Nach Pohl.

A. Prinzip. Pohl[2]) fällt das Globulin dadurch, dass er den Harn zur Hälfte mit Ammonsulfat sättigt (S. 1159), wobei Albumin nach Mörner zwar auch, aber nicht so vollständig wie bei Sättigen des Harns mit Magnesiumsulfat, als mucinähnliche Substanz gefällt wird. Der Niederschlag wird wieder mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung albuminfrei gewaschen, im übrigen aber nach Hammarsten (S. 1150) verfahren. Die Resultate zeigen eine befriedigende Übereinstimmung mit den nach dem Hammarstenschen Verfahren gewonnenen. Ein Verstopfen des Filters durch auskrystallisierendes Salz, was bei dem Hammarstenschen Verfahren leicht vorkommt, tritt hier nicht ein.

B. Ausführung. Es wird Harn mit Ammoniak bis zum Verschwinden der sauren Reaktion versetzt und wenn nötig von einem entstandenen Phosphatniederschlag abfiltriert. Von dem Filtrat versetzt man 50—100 ccm mit dem gleichen Volumen einer gesättigten neutralen Ammonsulfatlösung, bringt den Niederschlag nach einstündigem Stehen auf ein (im leeren Glaswolltrichter) gewogenes, bei 110° getrocknetes und nach dem Erkalten gewogenes Filter aus aschefreiem

[1]) Kamenski, Diss. Petersburg 1888; Chem. Zentralbl. 1888. 931.
[2]) J. Pohl, Archiv f. exper. Pathol. **20**. 426. 1886.

Digitized by Google

Papier und wäscht mit halbgesättigter (auf das doppelte Volumen verdünnter gesättigter) Ammonsulfatlösung, bis im Filtrat mit Essigsäure und Ferrocyankalium kein Eiweiss mehr nachweisbar ist. Von da ist das Verfahren dasselbe wie bei Hammarsten (S. 1150).

3. Das Verfahren von Oswald[1]).

Man bestimmt in einem Esbachschen Albuminimeter zunächst die Gesamteiweissmenge mittels des Esbachschen Reagens. In einem 2., 3. und 4. Albuminimeter wird zunächst Harn bis zur U-Marke eingefüllt und dann in das 2. Albuminimeter gesättigte Ammoniumsulfatlösung im Verhältnis 2,8 zu 7,2 Harn aus der Bürette hinzugefügt (zur Ausfällung von Fibrinogen), in dem 3. Albuminimeter wird konzentrierte Ammoniumsulfatlösung im Verhältnis 3,6 zu 6,4 Harn (Euglobulinfraktion), in dem 4. Albuminimeter 5:5 (Pseudoglobulinfraktion) hinzugegeben. Um die richtigen Mengenverhältnisse berechnen zu können, wird in die einzelnen Albuminimeter der Harn aus der Bürette bis zur U-Marke abgemessen, und dann die zuzusetzende Menge konzentrierter Ammoniumsulfatlösung für die einzelnen Albuminimeter berechnet. Die einzelnen Apparate werden nach dem Zusatz der Ammoniumsulfatlösung umgeschüttelt und mehrere Stunden stehen gelassen. Die Flüssigkeiten werden dann von dem Niederschlag entweder durch Abhebern oder durch Filtration getrennt. Die Niederschläge werden dann in Wasser (zweckmässig unter Zusatz von etwas Natriumcarbonat) gelöst, die Lösungen in den gleichen Apparaten, in denen die Ausfällung vorgenommen war, bis zur U-Marke aufgefüllt und dann mit Esbachschem Reagens bis zur R-Marke gefüllt. Man erhält auf diese Weise 4 Esbach-Werte. Das 1. Albuminimeter zeigt das Gesamteiweiss an. Das 2. Albuminimeter den an Fibrinogen bezw. Fibrinoglobulin. Der Eiweissgehalt im 3. Apparat minus dem des 2. ergibt das Euglobulin; der des 4. Apparates minus dem des 3. das Pseudoglobulin, der des 1. Apparates minus dem des 4. das Albumin.

Nach dem früher über die Esbachsche Methode Gesagtem kann diese Fraktionierung ebenfalls höchstens annähernde Vergleichswerte liefern.

4. Mittels der Hellerschen Eiweissprobe.

Lecorché und Talamon[2]) wenden zur Bestimmung des Globulins im Harn dasselbe Verfahren an, dessen sich Roberts, Stol-

[1]) A. Oswald, Münchn. med Wochenschr. 51. 1514. 1904.
[2]) E. Lecorché u. Ch. Talamon, Traité de l'albuminurie, Paris 1888. 67.

Digitized by Google

nikoff, sowie **Brandberg** zur Bestimmung des Gesamteiweisses bedient haben (S. 1137). Sie sättigen den Harn mit Magnesiumsulfat und verwenden das Filtrat zur Bestimmung des in Lösung gebliebenen Albumins. Die Menge desselben wird abgezogen von der Menge des nach Brandberg bestimmten Gesamteiweisses. Es war die Frage, ob die starke Erhöhung des Salzgehaltes die Richtigkeit des Resultats nicht beeinträchtigt. v. Ritter hat in Hupperts Laboratorium in 10fach verdünntem Harn ohne und mit Zusatz von soviel Ammonsulfat, als der unverdünnte Harn zur Fällung des Globulins gebraucht hätte, das Eiweiss nach Brandberg bestimmt und dieselben Werte erhalten.

Ob es zulässig ist, die Menge des Albumins nach derselben Formel zu berechnen wie die des Gesamteiweisses, ist fraglich, aber nicht unwahrscheinlich.

5. Bestimmung durch das Polarimeter.

Man könnte so verfahren, dass man die Drehung des Harns bestimmt, dann das Globulin nach II. 1 oder 2 abscheidet und die Drehung des Filtrats ermittelt und endlich aus dem Filtrat oder aus einer anderen Harnprobe das gesamte Eiweiss abscheidet und in dem eiweissfreien Harn die Eigendrehung bestimmt. Es wäre dann unter Berücksichtigung der Volumensänderungen mit Hilfe der Drehungskonstanten des Albumins und des Globulins die Menge der beiden Eiweissubstanzen zu berechnen. Das Verfahren scheitert aber daran, dass sich die Eigendrehung des Harns bei den verschiedenen Fällungsweisen der Eiweisskörper in verschiedenem Grade ändert, ein Umstand, der bei der Kleinheit der im Eiweissharn zur Beobachtung kommenden Drehungen die Richtigkeit der Resultate in erheblicher Weise beeinflusst (s. S. 1148).

II. Globuline.

Allgemeines. Unter dem Namen Globuline werden eine Anzahl von durch Erhitzen ihrer wässerigen Lösung koagulierbaren Proteinen zusammengefasst, die als sichere gemeinsame Eigenschaft die **Unlöslichkeit in halbgesättigter Ammoniumsulfatlösung** haben. Die Globuline sind löslich in verdünnten Lösungen neutraler Salze, wie NaCl, $MgSO_4$, NH_4Cl, sowie in Alkalien und stark verdünnten Säuren. Ursprünglich hat man noch als zweites gemeinsames Merkmal die Unlöslichkeit in destilliertem Wasser angegeben. Die Unlöslichkeit in salzfreiem Wasser lässt

Digitized by Google

sich dadurch dokumentieren, dass aus einer Lösung von Globulin in verdünnter Salzlösung Globulin ausfällt, wenn man durch Dialyse den Salzgehalt herabsetzt. Auch gelingt es bei geeigneten Konzentrationsverhältnissen, wenn man die Globulinlösung mit destilliertem Wasser stärker verdünnt, Globulin zur Ausfällung zu bringen.

Es hat sich aber herausgestellt, dass insbesondere beim Blutserum aus der durch Halbsättigung mit Ammoniumsulfat (oder auf andere Weise) gewonnenen Gesamtglobulinmenge durch Dialyse nur ein Teil des Eiweisses zum Ausfallen gebracht werden kann (Marcus, Pick, Fuld und Spiro, Freund und Joachim). Man hat den bei der Dialyse ausfallenden Teil als Euglobulin, den nicht ausfallenden Teil als Pseudoglobulin bezeichnet. Es ist aber doch fraglich, ob in dieser Weise wirklich zwei verschiedene Eiweisskörper voneinander getrennt worden sind, denn Hammarsten und Taylor weisen darauf hin, dass durch geeignete Reinigungen das Euglobulin wenigstens zum Teil wieder zu Pseudoglobulin wird und umgekehrt. Auch die von Spiro und Fuld, bezw. von Spiro und Porges[1]) durchgeführte Fraktionierung der bei Halbsättigung mit Ammoniumsulfat gewonnenen Serumglobuline in drei Fraktionen (Fällungsgrenzen 28—36, 33—42, 40—46 Vol.-Proz.) hat nicht einwandfrei ergeben, dass es sich hierbei um einheitliche chemische Individuen handelt, zumal auch diese Fraktionen sich durch Dialyse wieder zerlegen lassen in demselben Sinne wie das Gesamtglobulin.

Vom Globulin verschieden, vor allem durch die Eigenschaft der Gerinnbarkeit durch das Fibrinferment, ist das Fibrinogen, das man im allgemeinen auch zu den Globulinen rechnet (über dessen Eigenschaften etc. s. bei Fibrinausscheidung).

1. Serumglobulin (Paraglobulin, fibrinoplastische Substanz älterer Autoren).

A. Vorkommen. Im Harn findet sich das Globulin fast stets als Begleiter des Albumins, und zwar bei jeder Art von Albuminurie. In Ausnahmefällen haben Hammarsten, F. A. Hoffmann, F. D. Boyd, J. Strauss neben Albumin kaum sicher nachweisbare Spuren von Globulin im Harn gefunden (Serinurie), oder noch seltener nur Globulin und kein Serumalbumin (Hammarsten, Werner,

[1]) E. Markus, Zeitschr. f. physiol. Ch. 28. 559. 1899. — E. P. Pick, Hofmeisters Beiträge 1. 351 u. 393. 1901. — E. Fuld und K. Spiro, Zeitschr. f. physiol. Ch. 31. 132. 1900. — E. Freund und J. Joachim, Ebenda 36. 407. 1902. — O. Hammarsten s. Cohnheim, Chemie der Eiweissstoffe II. Aufl. Seite 169. — A. E. Taylor, Journ. of biol. chem. 1. 345. 1906. — K. Spiro, Hofmeisters Beiträge 1. 78. 1902. — K. Spiro und O. Porges, Ebenda 3. 277. 1902.

Digitized by Google

Maguire, Larroche, Chauffard und Gourand) (Globinurie). Dementsprechend wechselt das Verhältnis zwischen Globulin und Serumalbumin im Harn ganz ausserordentlich; als Grenzwerte fand Hammarsten 8,13 und 60,24% des Gesamteiweisses an Globulin, oder die Menge Albumin, welche auf 1 Globulin kam, bewegte sich zwischen 0,66 und 11,2; zu ähnlichen Erfahrungen über die Grösse dieses „Eiweissquotienten" gelangten in sehr zahlreichen Bestimmungen Hoffmann, Czatáry, sowie Patella und viele andere [1]). Gewöhnlich enthält der nephritische Harn mehr Serumalbumin wie Globulin, so dass der Eiweissquotient im allgemeinen 1,5—2,3 beträgt. Es ist zu bedenken, dass die getrennte Bestimmung von Serin und Globulin nur grobe Annäherungswerte liefert.

Bei Nephritis fand Hoffmann den Quotienten im Mittel zu 4,5, mit den Grenzwerten 0,61 und 13,0, Czatáry die Grenzwerte 0,44 und 7,23. Bei anderen Formen der Albuminurie ergaben sich ähnliche Verhältnisse. Die Erfahrungen von Hoffmann und Czatáry ergaben übereinstimmend, dass bei Besserung der Nephritis die relative Menge des Globulins abnimmt. Czatáry hat bei der genuinen Schrumpfniere und bei der Stauungsalbuminurie (Herzfehler) die höchsten Werte für den Quotienten (28,1 und 53,2) gefunden; ferner bei der amyloiden Degeneration bei höchstem Eiweissgehalt (bis 3,3%) den Quotienten meist unter 1,0, also relativ sehr viel Globulin. Nach Patella wird bei der Pneumonie viel, beim Typhus wenig Globulin ausgeschieden. Bei Schrumpfniere überwiegt im allgemeinen das Serin stark. Czatáry sucht hierfür in der Höhe des Blutdruckes und der Stromgeschwindigkeit die Erklärung, während neuere Autoren (Cloetta, Dreser, Lommel) [2]) auf die Beschaffenheit der filtrierenden Membran den Hauptwert legen.

Bestimmte Beziehungen zwischen dem Mischungsverhältnis beider Eiweisskörper im Blute einerseits und im Harn andererseits haben sich nicht ergeben (Czatáry, Noel Paton, Cloetta, Erben) [3]).

Bei Amyloidentartung der Nieren ist häufig ein Überwiegen des Globulins gegenüber dem Albumin im Harn zu beobachten (Senator, Reale, Erben, Joachim, Jack und Necker), jedoch liegen auch gegenteilige Befunde vor (Petri, Noel Paton) [4]).

[1]) Wegen der einschlägigen Literatur siehe von Noorden, Handb. d. Pathol. d. Stoffwechsels II. Aufl. 1. 1009. 1906. — O. Hammarsten, Private Mitteilung an Huppert. — F. A. Hoffmann, Virchows Archiv 89. 271. 1882. — Fr. D. Boyd, Edinb. med. Journ. 1894. May. — J. Strauss, Diss. Strassburg 1895. — Marguire, Lancet 1886. 1062 u. 1106. — J. Larroche, Echo méd. de Toulouse 1902 [2] 78. — Chauffard und Gourand, Zentralbl. f. Harn- u. Sexualorg. 12. 643. 1901. — A. Czatáry, Archiv f. klin. Med. 47. 159. 48. 358. 1891. — S. Patella, Ann. di chim. e farmacol. 8. 190. 1888; Maly 18. 30. 1888.

[2]) Cloetta, Archiv f. exper. Pathol. u. Pharm. 42. 453. 1899; 48. 223. 1902. — A. Dreser, Verhandl Gesellsch. deutsch. Naturf. u. Ärzte 74. I. 254. 1903. — F. Lommel, Deutsches Archiv f. klin. Med. 78. 254. 1903.

[3]) Noel Paton, Brit. Med. Journ. 1890. II. 26. July. — Erben, Zeitschr. f. klin. Med. 50. 441. 1903.

[4]) H. Senator, Virchows Archiv 60. 476. 1874. — E. Reale, La nuova clinica terap. 6. Nr. 7. 1903. — Wiener med. Wochenschr. 1904. 1411. — Erben, l. c. — J. Joachim, Pflügers Archiv 93. 558. 1903. — E. Jack und Fr. Necker, Arch. f. klin. Med. 88. 542. 1907. — Petri, Zur Chemie des Eiweissharns. Diss. Berlin 1876. — Noel Paton l. c.

Digitized by Google

Das Globulin des eiweisshaltigen Harns ist ohne Zweifel, wenigstens der Hauptmenge nach, das Serum- oder Paraglobulin. Über Ergebnisse der „biologischen Untersuchung" s. bei Albumin (S. 1123). Einige Tatsachen lassen aber auch die gleichzeitige Gegenwart noch eines anderen Globulins, wahrscheinlich des Fibrinogens als nicht unwahrscheinlich erscheinen (s. auch bei Fibrinogen).

Sicher ist das Fibrinogen in solchen Harnen in gelöster Form enthalten gewesen, welche einige Zeit nach der Entleerung Fibrin abgeschieden haben. Auf das wenigstens zeitweilige Vorkommen von nicht spontan gerinnendem Fibrinogen in Eiweissharnen scheint die niedere Koagulationstemperatur mancher derselben hinzuweisen. Gerhardt sah Eiweissharn schon bei 56° gerinnen, Brunton und Power bei 55,6°. Temperaturen, welche in auffälliger Weise mit dem Koagulationspunkt des Fibrinogens zusammenfallen (vgl. S. 1161); Führy-Snethlage schied aus Eiweissharn die Hauptmenge der Globuline durch Dialyse ab und fand, dass die rückständige (noch globulinhaltige) Eiweisslösung bei 36—55° gerann und, nachdem sie mit Wasser verdünnt worden war, bei 51—58°. In Zusammenhang hiermit steht die weitere Beobachtung Gerhardts, nämlich dass Eiweissharn manchmal zwei verschiedene Gerinnungstemperaturen zeigt (S. 1102). Bei seinen Versuchen, das Globulin durch Ammonsulfat aus dem Harn zu fällen, sah Pohl [1]) diese Fällung einmal schon nach Zusatz von 0,6 Vol. gesättigter Ammonsulfatlösung eintreten, während das Serumglobulin Zusatz des gleichen Volumens der Salzlösung fordert. Von näher bekannten Globulinen besitzt nur noch das Myosin einen so niederen Koagulationspunkt wie das Fibrinogen. Das Vorkommen des Fibrinogens im Harn ist wahrscheinlicher, als das des Myosins, weil das Fibrinogen einen Bestandteil des Plasmas bildet, und wäre analog dem Vorkommen von Fibrinogen in der Hydroceleflüssigkeit.

Es darf dabei nicht ausser acht gelassen werden, dass der Gehalt der Lösung an Neutralsalz einen grossen Einfluss auf die Koagulationstemperatur ausübt (S. 1085), ferner, dass es Serumalbumine von verschiedenen Koagulationspunkten gibt (S. 1101), und dass sich die Heteroalbumose sowie der Bence-Jones'sche Eiweisskörper des Harns ganz (s. dort), der auch im normalen Harne enthaltene mucinähnliche Körper in manchen Stücken wie ein Globulin verhält.

B. Eigenschaften. 1. Globulin ist amorph; Versuche, nach der Ammonsulfatmethode Krystalle zu gewinnen, waren negativ. Über die Löslichkeit in destilliertem Wasser siehe vorher (S. 1084).

Die Lösungen des Globulin (2 und 3) lenken die Ebene des polarisierten Lichtes nach links ab und diffundieren durch Pergamentpapier nicht. Für das Paraglobulin in Salzlösung ist nach Frédéricq $[\alpha]_D = -47{,}8^0$ bis $-48{,}2^0$. Die Koagulationstemperatur in 10%iger NaCl-Lösung liegt unscharf zwischen 69—76°. Die Goldzahl liegt bei 0,02—0,05 (Schulz und Zsigmondy)[2]).

Frédéricqs Bestimmungen beziehen sich auf das Serumglobulin in Salzwasser aus dem Serum vom Rind, Pferd, Kaninchen und Hund. Hammarsten fand die spezifische Drehung ungefähr zu — 47°. Haas [3]) bestimmte sie für Serumglobulin in verdünntem Natroncarbonat zu — 59,8°.

[1]) C. Gerhardt, Arch. f. klin. Redic. 5. 214. — Landes Brunton u. d'Arcy Power, St. Bartholomeus Hosp. Reports. 13. 284. Führy-Snethlage, Arch. f. klin. Med. 17. 418 1876 — J. Pohl, Archiv f. exper. Pathol. 20. 432.

[2]) L. Frédéricq, Archives de Biol. 1. 462. 1880. 2. 379. 1881. — Fr. N. Schulz und R. Zsigmondy, Hofmeisters Beiträge 3. 138. 1901.

[3]) O. Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Ch. 9. 499. 1885. — Haas, Pflügers Archiv 12. 405. 1876.

Digitized by Google

Die Gerinnungstemperatur des Serumglobulins schwankt zwischen 68—80°. Bei geringem Gehalt an Globulin sowie an Salz und bei raschem Erhitzen ist dieselbe am höchsten. Hoher Salzgehalt setzt die Koagulationstemperatur herab (Limbourg)[1].

2. Sie lösen sich in Neutralsalzlösungen, ihre Löslichkeit in Salzlösungen hängt aber ab von der Konzentration der Salzlösung und von der Art des gelösten Salzes.

In Kochsalzlösung von 5—10% lösen sich die Globuline leicht, weniger leicht in schwächeren oder konzentrierteren; wird eine Kochsalzlösung der angegebenen Konzentration, welche reichlich Globulin gelöst enthält, mit Wasser stark verdünnt (auf das 10—20fache und darüber), so lässt sie Globulin ausfallen; ebenso scheidet sich Globulin ab, wenn in der globulinhaltigen Salzlösung noch mehr Kochsalz gelöst wird. Entfernt man aus einer Globulinlösung das lösende Salz durch Dialyse, so fällt gleichfalls Globulin aus.

Neutralsalze fällen bei einer gewissen Konzentration das in verdünnten Neutralsalzlösungen gelöste Globulin. Globulin wird durch Sättigen der Lösung mit NaCl unvollständig, mit Magnesiumsulfat fast vollständig gefällt. Halbe Sättigung mit Ammoniumsulfat oder mit Zinksulfat fällt das Globulin vollständig (Zusatz des gleichen Volum der konzentrierten Salzlösung zu der Eiweisslösung). Die Fällungsgrenzen des Serumglobulins für neutrales Ammoniumsulfat liegen bei 2,9 und 4,6, d. h. wenn eine Globulinlösung in 10 ccm so viel Ammoniumsulfat enthält, wie in 2,9 ccm konzentrierter Ammoniumsulfatlösung enthalten ist, so beginnt eine Globulinfällung, die zunimmt bis zu einem Gehalt entsprechend 4,6 ccm konzentrierter Ammoniumsulfatlösung in 10 ccm.

3. Die Globuline lösen sich in verdünnten Alkalihydraten, in den Lösungen der kohlensauren Alkalien und des einfach sauren (und normalen) Alkaliphosphats; aus diesen Lösungen werden sie durch Säuren, auch durch Kohlensäure, wieder unverändert gefällt, aber nur unvollständig, weil das entstehende Salz noch Globulin in Lösung hält. Auch eine von zweifach saurem Phosphat schwach sauer reagierende Globulinlösung gibt mit Kohlensäure einen Niederschlag. — Alkohol fällt die Lösung gleichfalls; der Niederschlag wird bei längerem Verweilen unter Alkohol unlöslich.

Ebenso lösen sich die Globuline leicht in verdünnten Säuren, nicht so leicht, aber gleichfalls auch in Kohlensäure; in Berührung mit der Säure werden sie aber schnell in Acidalbumin (S. 1105) umgewandelt.

Leitet man in eine Lösung von Globulin in sehr wenig Alkali Kohlensäure, so entsteht alsbald ein Niederschlag; dieser Niederschlag löst sich leicht und vollständig in Salzwasser. Bei weiterem Einleiten von Kohlensäure geht dieses Globulin wieder teilweise in Lösung; lässt man aus der Lösung die Kohlensäure abdunsten, so fällt die in Lösung gegangene Substanz aus, hat aber nun ihre Löslichkeit in Salzwasser verloren.

Auch aus seinen Lösungen in Neutralsalzlösungen kann das Globulin durch Säuren (auch Kohlensäure) gefällt werden; der Niederschlag ist aber kein Globulin mehr, sondern Acidalbumin.

Das Globulin ist durch Kohlensäure auch aus Harn fällbar. Da das Globulin durch Kohlensäure in Acidalbumin verwandelt wird, so könnte es geschehen, dass bei stundenlangem Einleiten von Kohlensäure in den Harn der Niederschlag

[1] R. Limbourg, Zeitschr. f. physiol. Ch. 13. 450. 1889.

Digitized by Google

nicht mehr ganz in Neutralsalzen löslich wäre, ohne dass man deshalb Grund zu der Annahme hätte, es sei im Harn schon ursprünglich Acidalbumin enthalten gewesen.

Eine Lösung von Globulin in der gerade erforderlichen Menge von Natriumcarbonat gibt mit einer (schwach alkalischen) wässerigen Albumoselösung nach Kutscher[1]) einen Niederschlag, welcher sich in überschüssigem Alkali und in Säure löst. Desgleichen entstehen Fällungen mit Histon, Nuclein, Nucleoalbumin, Protaminen.

4. Mit Säuren oder Alkalien erwärmt entstehen echte Acid- bezw. Alkaliglobulinate. Die Umwandlung erfolgt sehr leicht durch Alkalien, relativ langsam durch Säuren.

Beim Erhitzen mit Wasser liefert das Globulin nach Mörner[2]) eine dem tierischen Gummi ähnliche, aber stickstoffhaltige Substanz (vgl. S. 466), welche beim Erwärmen mit 3—5% Salzsäure auf dem Wasserbad einen Körper gibt, der Kupferhydrat in alkalischer Lösung reduziert, Wismutoxyd dagegen nicht oder nur schwach, optisch inaktiv ist und ein bei 170—172° schmelzendes Osazon bildet. Diese zuckerähnliche Substanz wird auch direkt aus dem Globulin beim Erwärmen mit Salzsäure erhalten.

5. Die Globuline geben die gleichen Farbenreaktionen wie die Albumine (s. dort). Auch die zum Nachweis des Albumins beschriebenen Fällungsreagentien zeigen ebenso Globulin an.

C. Nachweis. Neben Albumin in Lösung befindliches Globulin lässt sich nur dadurch nachweisen, dass man es von dem Albumin trennt.

Man hat sich dazu verschiedener Methoden bedient.

a) Das am frühesten angewandte, aber sehr mangelhafte Verfahren bestand darin, dass man den Harn mit Wasser bis zur Dichte von 1,002—1,003 verdünnte (einen Harn von 1,012 also auf das 6- oder 4fache) und vorsichtig mit stark verdünnter Essigsäure versetzte oder in denselben längere Zeit Kohlensäure einleitete. J. C. Lehmann[3]) war der erste, welcher nachwies, dass der durch Kohlensäure in einem Eiweissharn entstehende Niederschlag aus Globulin besteht. Öfter trübt sich der Harn schon beim Verdünnen; die Trübung wird durch die Behandlung mit Säure stärker, aber nur in seltenen Fällen setzt sich aus dem Harn auch bei stunden- und tagelangem Stehen so viel Niederschlag ab, dass er von der Flüssigkeit getrennt werden kann. Harnsäure ist in dem Niederschlag aber nicht enthalten (Lehmann). — Mittelst dieser Methode kann aus dem Harn wegen der lösenden Wirkung der Harnsalze nur ein kleiner Bruchteil des in ihm enthaltenen Globulins gewonnen werden.

b) Eine viel bessere Ausbeute an Globulin gewährt die Dialyse in Pergamentpapierschläuchen (Heynsius, Führy-Snethlage)[4]); das Verfahren ist aber umständlich und verbraucht viel Zeit; auch schliesst es eine Verunreinigung des Globulins mit Heteroalbumose, wenn diese zugleich vorhanden wäre, nicht aus.

Das Globulin beginnt sich aus dem Harn in Flocken oder auch als eine dünne, dem Papier fest anliegende Schicht abzuscheiden, wenn der Salzgehalt des Harns auf eine gewisse untere Grenze gesunken ist, und die Abscheidung des Globulins schreitet in dem Masse fort, als die Salze entfernt werden; das Albumin dagegen bleibt in Lösung. Ist auch bei anhaltender Dialyse mit destilliertem

[1]) Fr. Kutscher, Zeitschr. f. physiol. Ch. 23. 117. 1897.
[2]) K. A. H. Mörner, Zentralbl. f. Physiol. 7. 581. 1893.
[3]) J. C. Lehmann, Virchows Archiv 36. 125. 1866.
[4]) Heynsius, Archiv f. klin. Med. 22. 435. 1878. — Führy-Snethlage, daselbst 17. 418. 1876.

Digitized by Google

Wasser zu einem Zeitpunkt, in welchem sich im Aussenwasser schon bloss Spuren von Salz nachweisen lassen, noch kein Niederschlag im Dialysator entstanden, so könnte das Globulin in Verbindung mit einem Alkali in Lösung geblieben sein und es empfiehlt sich in solchen Fällen, die Flüssigkeit aus dem Dialysator herauszugiessen und in dieselbe Kohlensäure zu leiten. — Die dialysierte Flüssigkeit, in welcher der Globulinniederschlag entstanden ist, enthält noch das Albumin gelöst; man entfernt dieses, wenn es darauf ankommt, durch Auswaschen des Niederschlages (mittels Dekantieren, wenigstens im Anfang). — Über das Verhalten des Globulins bei der Dialyse s. vorher.

c) Das gesamte im Harn enthaltene Globulin (Serumglobulin und Fibrinogen) lässt sich dagegen durch Fällen desselben mittels eines dazu geeigneten Neutralsalzes gewinnen, wozu sich nach Hammarsten vollständige Sättigung der Lösung mit Magnesiumsulfat, nach Pohl[1]) Sättigen derselben bis zur Hälfte mit Ammonsulfat empfiehlt oder mit Na_2SO_4 bei 33⁰.

Das Verfahren ist im Grunde dasselbe, wie das zum Nachweis des Albumins als solchem dienende (s. S. 1122). Weil dabei aus saurem Harn auch Albumin niedergeschlagen wird, so macht man ihn vorher mindestens amphoter, noch besser schwach alkalisch und filtriert einen dadurch etwa entstehenden Niederschlag vor dem Salzzusatz ab.

Nach Hammarsten wird in den Harn fein gepulverte schwefelsaure Magnesia (120 g krystallisierte auf 100 ccm) eingetragen, bis sich von dem Salze auch nach längerer Berührung mit dem Harn nichts mehr auflöst, die Flüssigkeit samt dem flockigen Niederschlag auf ein Filter gebracht, der Salzbodensatz mit gesättigter Lösung von schwefelsaurer Magnesia aufgerührt, diese Flüssigkeit ebenfalls filtriert und das Filter mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung gewaschen; ist es erforderlich, das Globulin vollständig vom Albumin zu befreien, so muss das Waschen so lange fortgesetzt werden, bis das Filtrat nach Zusatz von Essigsäure durch Kochen nicht einmal opalin wird.

Pohl versetzt den alkalisch gemachten Harn mit seinem Volumen kalt gesättigter Ammonsulfatlösung, filtriert nach einstündigem Stehen und wäscht den Niederschlag mit halbgesättigter (mit ihrem Volumen Wasser verdünnter gesättigter) Ammonsulfatlösung nach, bis im Filtrat mit Essigsäure und Ferrocyankalium kein Eiweiss mehr nachweisbar ist.

Nach beiden Methoden werden auch Albumosen sowie die mucinähnliche Substanz ganz oder teilweise gefällt.

Will man die Niederschläge frei von Salzen haben, so müssen sie noch der Dialyse unterworfen werden.

In den meisten Fällen wird es für den Nachweis von Globulin genügen, dass ein Niederschlag entsteht. Eine Verwechslung von Magnesiumphosphat mit Globulin hat man bei dem ersten Verfahren nicht zu fürchten, weil sich der dabei anfangs entstehende Niederschlag von Magnesiumphosphat in der gesättigten Bittersalzlösung leicht löst (Huppert). Bei dem Verfahren von Pohl lässt sich eine Verwechslung mit Phosphat dadurch ausschliessen, dass man den mit Ammoniak alkalisch gemachten Harn einige Zeit stehen lässt und den dann gebildeten Niederschlag abfiltriert; harnsaures Ammon, welches gleich-

[1]) Hammarsten, Pflügers Archiv 17. 431 u. 447; 22. 437 und briefliche Mitteilung. Pohl, Archiv f. exper. Path. 20. 426. 1886.

Digitized by Google

falls ausfallen kann, scheidet sich im Gegensatz zum Globulin allmählich als gefärbter Niederschlag ab.

Paton [1]) empfiehlt zum Nachweis von Globulin den Harn schwach alkalisch zu machen und (nach dem Filtrieren) auf eine gesättigte Bittersalzlösung zu schichten; ein weisser Ring zeigt das Globulin an.

Das Globulin erkennt man daran, dass es sich, noch salzhaltig, in Wasser löst. Das durch Dialysieren salzfrei gewonnene Globulin löst sich in 5—10%iger Kochsalz- oder Bittersalzlösung, oft nicht vollständig, weil es zum Teil in die unlösliche Modifikation übergegangen ist; dagegen löst es sich immer leicht in verdünnten Alkalihydraten und verdünnten Alkalicarbonaten, sowie in verdünnten Säuren. Wenn sich ein solcher Niederschlag, wie Acidalbumin bzw. Alkalialbuminat, bloss in Säuren oder Alkalien löst, hat man darum noch keinen Grund zu der Annahme, der Harn habe Acidalbumin bzw. Albuminat enthalten.

Weitere Eiweissreaktionen lassen sich mit dem vermeintlichen Globulin nur nach völliger Entfernung des Albumins anstellen.

Von der mucinartigen Substanz des Harns unterscheiden sich die echten Globuline dadurch, dass die Lösung jener Substanz einen in überschüssiger Essigsäure sehr schwer löslichen, diese einen leicht löslichen Niederschlag geben.

Von der Heteroalbumose lässt sich das Globulin durch die Bestimmung des Koagulationspunktes und dadurch unterscheiden, dass das Globulin zu Acidalbumin wird, die Albumose dagegen nicht.

a) Zur Ermittelung des Koagulationspunktes (68—80°) löst man den noch salzhaltigen Niederschlag in wenig Wasser. Die im Harn vorkommende Albumose zeigt das Maximum der Trübung bei 59—60°, das in Salzwasser gelöste Fibrinogen bei 55°, das Serumglobulin (wie das Albumin) bei 75°.

b) Der Dialysationsniederschlag wird mit 1%iger Natriumcarbonatlösung im Wasserbad digeriert. Entsteht bei der Neutralisation der so hergestellten Lösung ein in Salzwasser unlöslicher Niederschlag, so bestand der Eiweisskörper aus Globulin; die Albumose bleibt beim Neutralisieren in Lösung oder wird vom Salzwasser wieder gelöst. — Eine Lösung der ursprünglichen Substanz in Salzwasser wird mit Salzsäure versetzt, ein entstehender Niederschlag nach einiger Zeit abfiltriert, abgepresst und in Wasser gelöst. War die fragliche Substanz Globulin, so gibt sowohl die Lösung des Salzsäureniederschlages in Wasser, als die von ihm abfiltrierte Flüssigkeit beim Neutralisieren einen in Salzwasser unlöslichen Niederschlag. — Es ist für beide Proben überflüssig, das vermeintliche Globulin vorher albuminfrei zu waschen, wenn viel desselben vorliegt.

Zur Unterscheidung des Fibrinogens und des Globulins lassen sich ihre Gerinnungstemperaturen, das Verhalten beider gegen Kochsalzlösung, gegen Ammoniumsulfatlösung und ihre Beteiligung bei der Fibrinbildung verwenden.

a) Zur Bestimmung des Koagulationspunktes dient eine Lösung des Salzniederschlages in Wasser.

b) Eine Lösung von Globulin in Kochsalzwasser kann bei Zusatz des gleichen Volumens gesättigter Kochsalzlösung selbst dann noch klar bleiben, wenn

[1]) N. Paton, Edinburgh med. Journ. **152**. Dec. 1888. 522.

Digitized by Google

sie reich an Globulin ist, während schon weit schwächere Fibrinogenlösungen dabei einen Niederschlag geben.

e) Eine Fibrinogenlösung liefert in Gegenwart eines Calciumsalzes mit Fibrinferment (Blut) Fibrin, während das Globulin bei der Fibrinbildung unbeteiligt ist; lässt sich ein spontan nicht gerinnendes Transsudat (Hydroceleflüssigkeit) durch Auflösen von Globulin aus Harn in demselben (bei 40°) zur Gerinnung bringen, wie in der Tat beobachtet wurde (Führy-Snethlage), so beweist der Versuch nicht die Gegenwart des Globulins, sondern nur die des Fibrinfermentes.

2. Fibrinogen.

A. Vorkommen. Fibrinogen, die Muttersubstanz des Fibrins, ist in allen Fällen anzunehmen, in welchen sich im Harn beim Stehen ein Fibringerinnsel bildet (s. bei Globulin und bei Fibrin). Der direkte Nachweis des Fibrinogen ist bisher nicht erbracht.

B. Eigenschaften. Das Fibrinogen gehört zur allgemeinen Gruppe der Globuline. Es unterscheidet sich vom gewöhnlichen Serumglobulin, abgesehen von der sog. spontanen Gerinnbarkeit, durch seine wesentlich leichtere Fällbarkeit durch Neutralsalz. Die Aussalzungsgrenzen für Ammoniumsulfat liegen nach Reye[1]) wesentlich tiefer wie die des Serumglobulin, und zwar je nach der Konzentration, beginnend von 1,7 bis 1,9 und endigend bei 2,5 bis 2,8.

Dementsprechend ist das Fibrinogen schon durch halbe Sättigung mit NaCl teilweise, durch Sättigen mit Kochsalz vollständig aussalzbar. Beim Aufbewahren unter Wasser, sowie beim Auswaschen auf dem Filter büsst das Fibrinogen sehr rasch das Vermögen, sich in verdünnter Salzlösung aufzulösen, ein, wesentlich rascher wie das Serumglobulin. — Wird eine Lösung von Fibrinogen in Salzlösung im Vakuum verdunstet, so ist der trockene Rückstand in Salzwasser nur zum Teil löslich.

Eine Lösung von Fibrinogen in Salzwasser gerinnt bei 52—55°, die in einer zur Lösung gerade hinreichenden Menge Alkali bei 56—58°; der aus Alkalifibrinogen erhaltene Niederschlag löst sich beim Kochen ganz oder teilweise und das Fibrinogen wird dabei zu Albuminat.

$CaCl_2$ gibt in verdünnten salzfreien Lösungen von Alkalifibrinogen kalkhaltige Niederschläge, nicht aber in salzhaltigen Lösungen oder bei Verwendung eines Überschusses von Kalksalz.

Unter dem Einfluss von Fibrinferment verwandelt sich das Fibrinogen in Fibrin.

C. Nachweis. Der Nachweis des Fibrinogens fusst auf der Isolierung durch fraktioniertes Aussalzen oder in der Erzeugung eines

[1]) W. Reye, Diss. Strassburg 1898.

Digitized by Google

Fibringerinnsels durch Hinzufügen einer Fibrinferment enthaltenden Lösung. Die Isolierung erfolgt zweckmässig in Anlehnung an die von Reye für das Plasma gegebenen Vorschriften, indem man die betreffende Lösung zunächst durch Zusatz des gleichen Volums kalt gesättigter NaCl-Lösung fällt, den Niederschlag in 6—8%iger Kochsalzlösung wieder löst und dann die Fällung mit konzentrierter Kochsalzlösung mehrfach wiederholt. Schliesslich wird durch Dialyse gegen 0,003%ige NaOH-Lösung von Kochsalz befreit. Aus dieser salzfreien Lösung kann das Fibrinogen durch Alkohol oder durch Einleiten von Kohlensäure ausgefällt werden.

3. Fibrin (s. auch bei Sedimenten).

A. Vorkommen. Das Fibrin kann im Harn, bei Blutungen in den Harnwegen, sowie bei Chylurie auftreten.

Ferner kann man eine „Fibrinurie" im engeren Sinne unterscheiden, die ein Zeichen einer heftigen Entzündung der Harnwege, des Nierenbeckens, der Uretheren oder der Blase ist. Hier setzt der Harn gleich nach der Entleerung teils feste, teils gallertartige Gerinnsel ab, oder er führt sie schon bei der Entleerung mit sich, wenn die Gerinnung schon im Körper stattgefunden hat (Nierenbecken, Urether, Blase).

Hersch-Ber Kutner hat 13 derartige Fälle aus der Literatur zusammengestellt, beobachtet von Nasse, Senator, Baumüller, v. Jaksch, Klein, Lostorfer, Quincke, Imbert und Blaufuss, Bötzold, Trischitta, Isaak und Mosse[1]).

Quincke gibt ferner an, mehrfach Fibrinurie bei Schrumpfniere gesehen zu haben.

Fr. Müller gibt an (zitiert nach der 10. Aufl. dieses Handbuches) in einem Fall von parenchymatöser Nephritis gegen das tödliche Ende Fibrinbildung gesehen zu haben.

Die Gerinnsel bestehen nicht immer ausschliesslich aus Fibrin, sondern können auch Mucin und Nucleoalbumin enthalten.

Der Harn hungernder Kaninchen gerinnt häufiger zu einer festen Gallerte. Worauf diese Gerinnung beruht, ist mir nicht bekannt. Angaben in der Literatur hierüber sind mir nicht aufgestossen (Schulz).

Moruzzi[2]) beobachtete, dass der Harn eines an Nephritis tubul. desquam. acuta leidenden Kindes bei Zusatz von Essigsäure sich in eine dichte, vollkommen durchsichtige Gelatine verwandelte. Bedingung war: hoher Eiweissgehalt und geringer Salzgehalt.

---

[1]) Hersch-Ber Kutner, Diss. Berlin 1907. — H. Nasse, Unters. f. Physiol. u. Pathol. **1.** 209. 1836. — H. Senator, Virchows Archiv **60.** 1874. — Baumüller, Ebenda **82.** 1880. — v. Jaksch, Zeitschr. f. klin. Med. **22.** 1893. — A. Klein, Wiener klin. Wochenschr. 1896. 5. 709. — R. Lostorfer, Ebenda 1903. Nr. 7. — H. Quincke, Deutsches Archiv f. klin. Med. **79.** 1904. — L. Imbert und O. Blaufuss, Annales des Maladies des Organes genitrurinafres. Montpellier 1902. Nr. 2. — O. Blaufuss, Thèse de Montpellier 1902. — Bozzolo, Contributo alla diagnosi della pilita (Pyelitis) calcolosa. Torino 1877. — Trischitta, Clinica médica 1900. 525. — A. Isaak, Archiv f. Dermatol. u. Syphilis **67.** 1903. — Mosse, Berliner klin. Wochenschr. 1906. Nr. 9.

[2]) G. Moruzzi, Med. Klinik **33.** 1278. 1911.

Digitized by Google

B. Eigenschaften. Reines Fibrin, wie es von Hammarsten analysiert wurde, ist in der elementaren Zusammensetzung nur wenig vom Fibrinogen verschieden. Es quillt in schwachen Laugen und Säuren nur zu einer festen Gallert auf, löst sich aber in denselben in der Kälte ebensowenig wie in Neutralsalzlösungen; die schwachen Säuren und Laugen lösen es aber bei längerer Einwirkung in der Wärme. Aus serumglobulinhaltigen Flüssigkeiten abgeschiedenes Fibrin enthält Serumglobulin eingeschlossen.

C. Nachweis. Wenn sich Gerinnsel im Harn vorfinden, so filtriert man sie durch ein dichtes Tuch vom Harn ab und knetet sie, um das anhaftende Serumglobulin zu entfernen, zunächst in oft erneuerter 5—10%iger (thymolisierter) Kochsalzlösung, bis die Lösung keine Eiweissreaktionen mehr gibt. Bleibt dabei Gerinnsel übrig, so spricht diese Tatsache schon sehr für die Gegenwart von Fibrin. Der Rückstand darf sich in der Kälte nicht in verdünnten Alkalien oder verdünnten Säuren lösen, muss aber bei längerer Digestion in der Wärme in 1%iger Sodalösung oder 0,5%iger Salzsäure in Lösung gehen und die Lösung dann Eiweissreaktionen geben. — Mit Pepsinsalzsäure tritt bei Bruttemperatur sehr rasch Lösung ein. Die Fibrinfasern zeigen die Weigertsche Fibrinfärbung.

III. Die mit Essigsäure fällbaren Eiweissstoffe des Harns.

Allgemeines. Ausser den bisher besprochenen Eiweissstoffen, die offenbar direkt aus dem Blute stammen, treten verhältnismässig häufig kombiniert mit den erstgenannten Eiweissstoffen oder auch ohne dieselben Eiweissstoffe auf, die eine ganz andere diagnostische Bedeutung haben. Es sind besonders die Fälle von zyklischer Albuminurie (auch orthostatische, orthotische, juvenile Albuminurie oder Pubertätsalbuminurie genannt), in welchen diese Eiweissstoffe in oft beträchtlichen Mengen zur Ausscheidung gelangen.

Die Charakterisierung dieser Eiweissstoffe ist in den meisten Fällen eine so mangelhafte, dass es schwer ist, ein Bild von dem tatsächlichen Stand unseres Wissens auf diesem Gebiete zu geben. Es ist notwendig, ehe auf die Mitteilung des Tatsächlichen eingegangen wird, gewisse Richtschnuren festzulegen, nach denen die Charakterisierung solcher Eiweissstoffe mit den uns heute zur Verfügung stehenden Mitteln zu geschehen hat. Es ist ohne Frage nicht statthaft, die durch Essigsäurezusatz fällbaren Eiweissstoffe des Harns als gleichwertig oder gar identisch anzusprechen. Wenn in einer Eiweisslösung durch Essigsäure ein Niederschlag entsteht, so kann daran Schuld sein die spezifische Natur des betreffenden Eiweissstoffes. Zu den mit Essigsäure direkt fällbaren Eiweissstoffen gehört der Schleimstoff, das Mucin, sowie manche andere Proteide, z. B. Nucleoalbumine und Nucleohistone. Es ist aber auch möglich, dass ein durch Essigsäure an und für sich nicht direkt fällbarer Eiweissstoff fällbar wird durch andere Stoffe, die mit ihm in Lösung sind. Gerade diesen letzteren Punkt hat man bei der Harnuntersuchung erst sehr spät berücksichtigt. Es können die Verhältnisse

Digitized by Google

so liegen, dass im Harn Stoffe vorhanden sind, welche an und für sich fällbare Stoffe an der Fällung verhindern oder auch Stoffe, welche an und für sich nicht fällbare Stoffe ausfällen. Beides ist in praxi zu berücksichtigen.

Unter diesen Umständen ist es nicht zu verwundern, dass die Angaben ausserordentlich auseinandergehen. Will man Verschiedenartiges auseinanderhalten, so kann man das erstens tun durch Aufklärung der Fällungsverhältnisse und andererseits durch Untersuchung der entstandenen Niederschläge.

Wenn es sich um ein echtes Mucin handelt, so muss der Nachweis zu führen sein, dass bei Hydrolyse ein reduzierendes Kohlehydrat in beträchtlicherer Menge gebildet wird. Bei Vorhandensein eines Nucleoalbumin oder eines ähnlichen Eiweissstoffes (Nucleohiston), ist der Nachweis von Phosphor im Niederschlag zu verlangen. Ausserdem ist nach Möglichkeit durch fraktionierte Fällung am besten mit Ammonsulfat festzustellen, welche Fällungsgrenzen der betreffende Stoff hat.

So erscheint denn als gesichertes Ergebnis folgendes festgestellt: Echtes Mucin aus den Schleimhäuten der Harnwege stammend, bildet den Hauptbestandteil der Nubekula des normalen Harns; bei Reizzuständen dieser Schleimhäute kann die Menge des Mucin zunehmen. Nach Mörner bezeichnet man diesen Eiweissstoff zweckmässig als „typisches Harnmucoid".

Neben diesem typischen Harnmucoid kann der Harn auch noch andere durch Essigsäure fällbare Eiweissstoffe enthalten. Es ist nach den Untersuchungen von K. A. H. Mörner sicher, dass der Harn Stoffe enthält, die bei essigsaurer Reaktion mit den gewöhnlichen Eiweissstoffen des Harns (Serumalbumin und Serumglobulin) Niederschläge bilden. Aber auch ohne solche von Mörner besonders charakterisierte, eiweissfällende Stoffe (vor allem Chondroitinschwefelsäure) können Serumglobulin und Fibrinogen durch Essigsäure direkt aus dem Harn gefällt werden. Aus dem Blutserum sind diese Stoffe nicht fällbar durch Essigsäure, nach Matsumoto[1]) ist es im wesentlichen der Salzmangel, der hier das Ausfällen des Fibrinogen und des Globulin verhindert. Fügt man zu Blutserum etwas Chlornatrium oder auch normalen Harn, so erzeugt Essigsäure eine Fällung.

Ausserdem ist in seltenen Fällen mit Sicherheit ein phosphorhaltiger Eiweissstoff nachgewiesen worden. Derselbe kann aus Leucocyten des Harns stammen oder aber schon durch direkte Ausscheidung durch die Nieren in den Harn gelangt sein. Wir haben also getrennt zu betrachten: 1. Das typische Harnmucoid, 2. die durch Essigsäure

[1]) Matsumoto, Deutsches Archiv f. klin. Med. 75. 398. 1903.

Digitized by Google

fällbaren Eiweissstoffe, welche phosphorfrei sind, 3. phosphorhaltige, durch Essigsäure fällbare Eiweissstoffe.

A. Das typische Harnmucoid.

Die Mucinsubstanz des Harns ist von K. A. H. Mörner[1]) untersucht worden.

A. Vorkommen. Das Mucoid bildet fast den einzigen eiweissartigen Bestandteil der Nubekula des Harns; aus der Nubekula von 260 Liter Harn gewann Mörner ungefähr 4,5 g. Auch in gelöster Form kommt etwas Mucoid, aber keineswegs eine erhebliche Menge im Harn vor und scheint dahin aus (den Zellen) der Nubekula gelangt zu sein. Es stammt aus der Schleimhaut der Harnwege.

B. Eigenschaften.

Der Entdecker des Harnmucoids unterscheidet ein typisches, ohne Anwendung von Wärme dargestelltes Mucoid von dem durch Wärme etwas veränderten, „in Wasser löslichen" Mucoid. Die nachstehende Beschreibung bezieht sich auf das typische.

Das Harnmucoid besitzt eine grosse Ähnlichkeit mit dem von C. Th. Mörner[2]) aus dem Eiereiweiss dargestellten Ovomucoid, ist aber mit ihm doch nicht identisch.

1. Das Harnmucoid bildet nach dem Trocknen über Schwefelsäure ein weisses oder ganz schwach gelbliches Pulver. Es enthält im Mittel 49,40% C, 12,74% N und 2,30% S, aber keinen Phosphor. Sein grosser Gehalt an Schwefel nähert es der Hornsubstanz und es kann daher, wie das Ovomucoid, als Keratomucoid bezeichnet werden.

Die Analyse wurde nach dem Verfahren von Frankland-Klingemann ausgeführt und deshalb der Wasserstoff nicht bestimmt.

2. Bisweilen löst es sich mit schwach saurer Reaktion in Wasser, bisweilen nicht; es quillt dann bei kurzem Erwärmen in Wasser auf, kann aber durch eine Spur Ammoniak oder Lauge, gleichfalls mit saurer Reaktion, in Lösung gebracht werden. Auch schwache Natriumacetatlösung nimmt es leicht auf. Ob die in dem Präparat in geringer Menge enthaltenen Salze von Bedeutung für die Löslichkeit sind, ist nicht entschieden; aber beim Aufbewahren büsst es an Löslichkeit ein. Die Lösung ist klar, gewöhnlich schwach gelb, leicht filtrierbar, nicht dickflüssig, noch weniger schleimig oder fadenziehend, aber ziemlich stark lichtbrechend.

3. Die spezifische Drehung wurde bei einem in Wasser löslichen Präparat zu $[\alpha]_D = -62^0$ bestimmt.

Ein in Wasser nicht lösliches, in etwas Kalilauge gelöstes Präparat ergab $[\alpha]_D = -63{,}7^0$ und ein ebensolches in Ammoniak gelöstes $[\alpha]_D = -67{,}1^0$.

[1]) K. A. H. Mörner. Skandin. Archiv 6. 338. 1895.
[2]) C. Th. Mörner, Zeitschr. f. physiol. Ch. 18. 525. 1893.

Digitized by Google

4. Beim Kochen trübt sich die von Haus aus schwach saure wässerige Lösung nicht, auch nicht bei Gegenwart von wenig oder viel Kochsalz.

5. Essigsäure erzeugt in der wässerigen oder mit Hilfe von wenig Ammoniak oder Lauge hergestellten Lösung einen Niederschlag, der durch einen Überschuss von Essigsäure (2,5—5,5%) wieder in Lösung geht. Das Harnmucoid löst sich also in Essigsäure viel leichter als andere Mucine. Neutralsalze (Kochsalz, Chlorammon) erschweren die Fällung durch Essigsäure; bei Gegenwart mässiger Mengen Salz bleibt die Lösung klar, wird aber etwas dickflüssig, beim Schütteln mit Chloroform scheiden sich dann nur etwas klebrige Flocken ab. Grössere Mengen Salz können diese Fällung ganz verhindern und sie tritt dann erst auf Zusatz von mehr Essigsäure ein.

6. Auch Mineralsäuren fällen das Mucoid, lösen es aber leichter als Essigsäure. Ein weiterer Überschuss an Mineralsäure ruft nicht, wie bei den echten Eiweisskörpern, wieder einen Niederschlag hervor.

Schichtet man die Mucoidlösung auf konzentrierte Salpetersäure (Hellersche Eiweissprobe), so bildet sich der weisse Ring nicht an der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten, sondern einige Millimeter weiter oben, und dieser Niederschlag verschwindet, wenn die Salpetersäure dahin diffundiert. Eine essigsaure Lösung des Mucoids gibt diese Probe gleich gar nicht.

Ebenso verhalten sich die eiweissfällenden Säuren: Metaphosphorsäure, Trichloressigsäure, Sulfosalicylsäure, Pikrinsäure, Pikrinsäure mit Zitronensäure (Esbachs Reagens), eine geringe Menge erzeugt einen Niederschlag, der sich in einem Überschuss löst; noch grössere Mengen bewirken keine Fällung und eine mit Essigsäure versetzte Lösung gibt mit diesen Säuren schon anfangs keinen Niederschlag.

Die (eiweissfällende) Chondroitinschwefelsäure kann die Fällung des Mucoid durch Essigsäure, sowie die Abscheidung des Mucoids durch Chloroform verhindern.

Wird eine neutrale, mit etwas Ammoniak bereitete Mucoidlösung normalem sauren Harn zugesetzt, so entsteht bei keinem Mischungsverhältnis eine Trübung. Ebenso negativ fiel der Versuch aus auf Zusatz von Mucoidlösung zu Harn, der durch Dialyse vom grössten Teil der Chloride, von einem geringeren der Phosphate befreit und mit Chloroform geschüttelt war; aber nach dem Zusatz des Mucoids fiel beim Schütteln mit Chloroform ein geringer Teil des Mucoids aus.

7. Sättigen mit Kochsalz fällt das Mucoid nicht, auch nicht in der Wärme; durch Eintragen von Magnesiumsulfat, sowie auf Zusatz mehrerer Volumen von neutralem gesättigten Ammonsulfat entstehen reichliche Niederschläge.

8. Von den Metallsalzen fällen Kupfersulfat, Silbernitrat, Bleizucker, Sublimat, Eisenchlorid, Alaun das Mucoid nicht; auch in der salzsäurehaltigen Lösung gibt Sublimat, selbst in Gegenwart von etwas Kochsalz, keinen Niederschlag zum Unterschied von echtem Eiweiss. Nur Bleiessig erzeugt einen im Überschuss schwer löslichen Niederschlag.

Digitized by Google

9. Das Mucoid fällt in geringem Grade Eiweisslösung.

Beim Überschichten einer essigsauren Mucoidlösung mit einer Lösung von verdünntem Blutserum in Essigsäure (0,2%) kann eine Trübung entstehen.

10. Alkaloidreaktionen. Das Mucoid wird reichlich gefällt nur durch Jodjodkalium und Salzsäure, Phosphorwolframsäure und Salzsäure, Tannin mit Essigsäure und Kochsalz.

Dagegen gibt das Mucoid keinen Niederschlag mit Jodjodkalium, sowie mit Kaliumquecksilberjodid und Essigsäure unter Bedingungen, unter denen gewöhnliches Eiweiss niedergeschlagen wird. Kaliumquecksilberjodid und Salzsäure fällt die Lösung des Mucoids nur dann, wenn es bereits (durch Einwirkung von Wärme) verändert ist. Auch die eiweissfällenden Säuren (s. dort) und Sublimat (s. dort) schlagen das typische Mucoid nicht nieder, wohl aber einige von ihnen das veränderte.

Ferrocyankalium mit Essigsäure oder mit ein wenig Salzsäure gibt gleichfalls keinen Niederschlag, ebensowenig Chondroitinschwefelsäure und wenig Essigsäure in einem Verhältnis, in welchem Eiweiss gefällt wird; bei Gegenwart von viel Essigsäure erzeugt aber Chondroitinschwefelsäure einen im Überschuss der Säure löslichen Niederschlag.

11. Farbenreaktionen. Das Mucoid gibt die Farbenreaktionen der Eiweisskörper.

Es treten ein die Biuretprobe und die Xanthoproteinprobe. Bei der Reaktion von Adamkiewicz entsteht eine rosenrote Färbung. Das Millonsche Reagens gibt einen Niederschlag, der beim Kochen rot wird, während die Flüssigkeit ungefärbt bleibt.

Mit α-Naphthol und konzentrierter Schwefelsäure wird eine vorübergehende Rotfärbung erhalten; eine violette Färbung wie beim Zucker kommt nicht zustande.

12. Zersetzungen. a) Das Mucoid verändert schon bei der Behandlung mit heissem Wasser seine Eigenschaften.

Das über Schwefelsäure getrocknete verändert sich beim Erhitzen auf 110°, selbst 130° nicht wesentlich; auch das in Lösung auf 100° erhitzte, dann (mit Essigsäure und Chloroform) ausgefällte Mucoid ist nach dem Trocknen über Schwefelsäure noch in Wasser löslich, büsst aber die Löslichkeit in Wasser und in Natriumacetat durch Trocknen bei 110—115° fast ganz ein, und das durch Eindampfen seiner wässerigen Lösung gewonnene Mucoid löst sich selbst in (schwachem) Ammoniak nicht oder nur sehr langsam; durch Erhitzen mit Wasser kann dieses aber zum Teil in Lösung gebracht werden.

Wird eine wässerige oder mit etwas Ammoniak oder Kalilauge hergestellte saure Mucoidlösung im zugeschmolzenen Rohr 4—5 Stunden im Wasserbad erhitzt, so sinkt seine spezifische Drehung beträchtlich (bis auf —53°), ohne dass die Lösung ihre Reaktion und Farbe verändert noch ihre Durchsichtigkeit eingebüsst hat. Es wird dann auch nicht mehr durch Essigsäure gefällt, aber im Gegensatz zum typischen Mucoid, oft durch Jodquecksilberkalium niedergeschlagen und kann selbst mit Jodquecksilberkalium und Essigsäure, mit dem Esbachschen Reagens und mit Trichloressigsäure Niederschläge geben. Die Veränderung in der Zusammensetzung ist unbedeutend; es kann der Stickstoffgehalt des Produkts etwas höher sein, als der des typischen Mucoids (13,12% gegen 12,78). Neben diesem, durch Alkohol fällbaren Produkt entsteht ein durch Alkohol nicht fällbares, welches die Millonsche Reaktion nicht gibt und schon für sich alkalische Kupferoxydlösung ziemlich schnell und stark reduziert.

b) Wird eine Mucoidlösung mit alkalischer Kupferoxydlösung im Wasserbad erwärmt, so beginnt sie nach etwa 5 Minuten

Digitized by Google

einen geringen Niederschlag von Kupferoxydul (und Schwefelkupfer) abzuscheiden. Diese Reduktion scheint um so leichter einzutreten, je stärker alkalisch die Kupferlösung ist.

c) Erwärmt man eine Mucoidlösung mit einigen Prozent Salzsäure auf dem Wasserbade, so färbt sie sich allmählich braunviolett und scheidet dann mit alkalischer Kupferoxydlösung viel reichlicher Kupferoxydul ab als ohne vorgängige Behandlung mit Salzsäure. Die Reduktion tritt jedoch lange nicht so schnell auf, wie mit einer Traubenzuckerlösung.

Die Chondroitinschwefelsäure und ihre Eiweissverbindungen verhalten sich ebenso, bei der Zersetzung dieser tritt aber Schwefelsäure auf. Die Reduktion tritt auch ein, wenn das Mucoid mit 0,1—0,15%iger Salzsäure 1—2 Stunden in siedendem Wasser erhitzt worden ist. Danach geben Jodquecksilberkalium, Esbachs Reagens, Metaphosphorsäure und Trichloressigsäure Niederschläge, nach längerem Erhitzen auch Ferrocyanwasserstoff und Sulfosalicylsäure. Beim Schichten der Lösung auf Salpetersäure tritt in der Grenzschicht kein Niederschlag, aber eine Gelbfärbung ein. Es entsteht also bei der Zerlegung neben dem reduzierenden Körper eine Substanz, welche Eiweissreaktionen gibt, wahrscheinlich eine Albumose. Bei unvollendeter Zersetzung wird durch Alkohol aus der Lösung eine Substanz gefällt, welche ein wenig mehr Kohlenstoff und Stickstoff enthält, als das ursprüngliche Mucoid.

d) Beim Erwärmen des Mucoids mit Salzsäure spaltet sich keine Schwefelsäure ab; es enthält also den Schwefel nicht in der Form einer gepaarten Schwefelsäure wie die Chondroitinschwefelsäure.

e) Lässt man eine Lösung des Mucoids in 1%iger Natronlauge in der Kälte stehen, so tritt gleichfalls eine Spaltung ein und aus der Lösung lässt sich als Kupferverbindung ein Körper abscheiden, der sich in warmem Wasser löst, stickstoffhaltig ist, aber die Millonsche Eiweissreaktion nicht gibt, und nach dem Erwärmen mit Salzsäure alkalische Kupferoxydlösung reduziert.

13. Die in Wasser lösliche Mucinsubstanz unterscheidet sich nur dadurch vom typischen Mucoid, dass sie durch Essigsäure nicht gefällt wird und eine etwas niedrigere spezifische Drehung, $[\alpha]_D = -59,2^0$, besitzt.

C. Darstellung. Die Darstellung lohnt sich nur bei der Verwendung grosser Harnmengen; Mörner hat 25—260 Liter auf einmal in Arbeit genommen. Der Harn soll eiweissfrei sein.

Man lässt den mit Chloroform sterilisierten Harn stehen, bis sich die Nubekula abgesetzt hat, hebert den klaren Harn ab und bringt das Sediment auf ein Filter. Bis zur gemeinsamen Verarbeitung grösserer Mengen wird der schleimige Belag des Filters in Chloroformwasser oder besser in Weingeist aufbewahrt. Man bringt ihn dann in der Weise zur Lösung, dass man ihn in Wasser verteilt, die Flüssigkeit mit Ammoniak schwach alkalisch macht und während der Zeit, welche die Lösung beansprucht, alkalisch hält. In die Flüssigkeit leitet man dann, ohne vorher zu filtrieren, Kohlensäure bis zu schwach saurer Reaktion, wobei der grösste Teil der in Lösung gegangenen Harnsäure gefällt wird und auch etwa vorhandenes

Digitized by Google

Eiweiss ungelöst bleiben kann. Nach 1—2 tägigem Stehen in der Kälte wird filtriert und die Flüssigkeit bis zu etwa 0,4% mit Essigsäure versetzt; sie wird dabei dickflüssig, eine Abscheidung der Substanz aber durch die gegenwärtigen Salze verhindert. Schüttelt man darauf kräftig mit reichlichen Mengen Chloroform, so entsteht ein flockiger, etwas klebriger Niederschlag, den man am besten mittels der Zentrifuge sammelt und in der Zentrifuge mit 0,2—0,4%iger, mit Chloroform gesättigter Essigsäure wäscht. Der Niederschlag wird in reinem Wasser unter Zusatz von ganz wenig Ammoniak gelöst, wieder mit Essigsäure gefällt und dieses Verfahren wiederholt, wenn sich aus einer mit Salzsäure versetzten, in der Kälte aufbewahrten Probe binnen einigen Tagen Harnsäure absetzt. Zuletzt wird die Substanz mit Weingeist und darauf mit Äther zerrieben und gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet. Das so erhaltene Präparat ist das typische Mucoid.

Die Mutterlauge enthält die lösliche Mucinsubstanz, deren Menge bisweilen bedeutend, selbst grösser als die des typischen Mucoids sein kann. Um diese zu gewinnen, werden die bei der Fällung mit Essigsäure und Chloroform (oder Essigsäure allein) erhaltenen Filtrate bei neutraler Reaktion im Wasserbade eingeengt, schwach angesäuert und mit Alkohol gefällt. Die wässerige Lösung des Niederschlags wird durch Dialyse bei schwach saurer Reaktion von der Hauptmasse der Salze befreit und wieder mit Alkohol gefällt. Entsteht dabei nur eine Trübung, so fehlt es an Salz, und man fügt deshalb etwas Kochsalz zu. Der flockige Niederschlag wird in Wasser gelöst, durch Alkohol gefällt, mit Äther gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet.

Auch aus Harn, der durch Dialyse vom grösseren Teil der Chloride befreit worden ist, kann Mucoid direkt durch Zusatz von Essigsäure (0,15%) und Schütteln mit Chloroform abgeschieden werden (K. A. H. Mörner)[1].

D. Nachweis. Der Nachweis fällt zum Teil mit der Darstellung zusammen. Charakteristisch für das Mucoid ist vor allem die Bildung einer Kupferoxyd in alkalischer Lösung reduzierenden Substanz beim Erwärmen mit verdünnter Salzsäure; vor Anstellung der Reaktion hat man dafür zu sorgen, dass etwa vorhandener Zucker durch Waschen der Substanz mit Alkohol entfernt wird. Verwechselt kann das Mucoid in dieser und anderer Hinsicht werden mit Chondroproteid (s. dort); allein dieses liefert bei der Zersetzung mit Salzsäure ausser der reduzierenden Substanz auch Schwefelsäure. Vom Chondroproteid unterscheidet sich das Mucoid noch dadurch, dass das Chondroproteid in schwach essigsaurer Lösung beim Kochen mit dem gleichen Volumen gesättigter Kochsalzlösung einen Niederschlag liefert, dass es ferner mit eiweissfällenden Säuren (Metaphosphorsäure, Trichloressigsäure, Sulfosalicylsäure, Esbachs Reagens) im Überschuss der Säuren unlösliche Eiweissniederschläge gibt und auch durch Ferrocyanwasserstoff gefällt wird.

Mit dem positiven Ausfall der Reduktionsprobe ist nur die Gegenwart eines Mucins erwiesen; der Mangel einer schleimigen Beschaffenheit der mit Essigsäure gefällten Substanz kennzeichnet sie als Mucoid.

[1]) K. A. H. Mörner, a. a. O. 360.

Digitized by Google

B. Die mucinähnliche Substanz.

A. Vorkommen. Im Harn kommen fast immer kleine Mengen eines Eiweisskörpers vor, welcher früher gewöhnlich für Mucin, auch für Paralbumin, Globulin, vor Maixner auch für Pepton gehalten wurde, von Huppert aber wegen seiner auffallenden Ähnlichkeit mit dem Nucleoalbumin der Galle, und darauf auch von Obermayer auf Grund derselben Tatsachen als Nucleoalbumin bezeichnet worden ist. Vom gewöhnlichen Harneiweiss unterscheidet es sich u. a. dadurch, dass es durch Essigsäure gallertartig gefällt wird. K. A. H. Mörner[1]) hat nun nachgewiesen, dass es sich bei normalem Harn um weiter nichts als um Albumin handelt, welches in essigsaurer Lösung durch gewisse im Harn in kleiner Menge vorkommende Säuren: Chondroitinschwefelsäure, Nucleinsäure und Taurocholsäure, niedergeschlagen wird, um Chondroalbumin, Nucleoalbumin und taurocholsaures Albumin. Von diesen Säuren findet sich die Chondroitinschwefelsäure immer im Harn, und zwar in erheblich grösserer Menge als die Nucleinsäure, welche manchmal sogar zu fehlen scheint; die Taurocholsäure tritt im normalen Harn selten auf, ist dagegen im ikterischen Harn hervorragend an der Bildung solchen Eiweissniederschlages beteiligt. Mörner hat alle eiweissfällende Substanz aus normalem Harn durch Albumin abgeschieden und die Niederschläge analysiert, wobei sich ergab, dass ausser der Chondroitinschwefelsäure und der Nucleinsäure keine andere Substanz in erheblicher Weise an der Bildung der Niederschläge beteiligt sein kann.

Da drei verschiedene saure Bestandteile des Harns in die Verbindung eingehen können, so wird es verständlich, dass die mucinähnliche Substanz nicht in allen Fällen dieselben Eigenschaften besessen hat. Auch solche Verbindungen, in denen nur eine der Säuren enthalten ist, verhalten sich je nach dem Gehalt an Eiweiss etwas verschieden; eiweissarmer Harn liefert aber eine eiweissärmere Verbindung als eiweissreicher. Es ist auch nicht ausgeschlossen, dass den erhaltenen Niederschlägen der Eiweissverbindung manchmal freies Eiweiss beigemengt war.

Die Menge des im normalen Harn enthaltenen Albumins reicht nicht aus, um alle eiweissfällende Substanz niederzuschlagen. Gelangt mehr Eiweiss in den Harn, so nimmt auch die Menge der mucinähnlichen Substanz zu, und endlich kann das Eiweiss überwiegen. Wo eine Zunahme der mucinähnlichen Substanz beobachtet worden ist, hat

[1]) Huppert, Dieses Werk, 9. Aufl. 277. 1890. — F. Obermayer, Zentralbl. f. klin. Med. 13. 1. 1892. — K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv 6. 332. 1895.

Digitized by Google

es sich entweder nur um eine Steigerung der physiologischen Albuminurie gehandelt oder um diese und vermehrte Ausscheidung eiweissfällender Substanz. Hierauf gerichtete Untersuchungen haben wesentlich nur wegen der Vermehrung der eiweissfällenden Substanz Wert. Es kommt auf die Art der Abscheidung an, ob das in geringer Menge im normalen Harn enthaltene Eiweiss als mucinähnliche Substanz oder in anderer Art nachgewiesen wird.

Aus dem Liter normalem Morgenharn von 10 gesunden Männern fällte Mörner[1]) direkt im Mittel 41 mg (25—89 mg) mucinähnliche Substanz; aus dem Filtrat wurden durch Zusatz von Serumalbumin im Mittel noch 54 mg (32—73 mg) gewonnen. Die gesamte im Liter Harn enthaltene Menge eiweissfällender Substanz betrug in ihrer Verbindung mit Albumin 95 (58—155) mg. Von den untersuchten Harnen erwies sich nur einer bei der Anstellung der Hellerschen Probe als schwach eiweisshaltig und gerade dieser lieferte direkt nur 26 mg der Eiweissverbindung, enthielt aber auch am wenigsten eiweissfällende Substanz.

Nur ausnahmsweise gibt nach Mörner ein Harn die S. 1166 u 1176 beschriebene Reaktion mit Salpetersäure nicht. In vermehrter Menge fand sich dieses Eiweiss im Harn Neugeborener (Flensburg), bei Kindern und Erwachsenen häufig nach angestrengter Muskeltätigkeit, unter pathologischen Verhältnissen bei Blasenkatarrh, bei hochgradiger Leukämie (Fr. Müller, Obermayer), bei Nephritis, sowie bei den verschiedensten akuten Krankheiten (Reissner u. a.), nach Obermayer namentlich solchen, welche mit einer Schädigung der Niere einhergehen (Scharlach, Diphtherie) oder dergleichen Giften (Pyrogallol, Teer, Naphthol, Sublimat, Arsen). Nach Fr. Müller kommt die mucinähnliche Substanz sehr regelmässig bei Abdominaltyphus vor, so lang hohes Fieber besteht, fehlt unter denselben Umständen bei kruppöser Pneumonie fast nie und verschwindet hier wieder am ersten oder zweiten Tage nach der Entfieberung. Enthält nach Reissner der Harn zugleich Eiweiss, so tritt es später auf und verliert sich ein paar Tage früher, als die mucinähnliche Substanz. Nach mechanischen Zirkulationsstörungen, wie sie durch Kompression des Thorax (Schreiber, Pichler und Vogt) und namentlich der Nierengefässe (Pichler und Vogt) hervorgebracht werden, findet sich reichlich mucinähnliche Substanz, oft von gewöhnlichem Eiweiss begleitet, im Harn. Die Chloroformnarkose hat nach Friedländer[2]) häufig das Auftreten beträchtlicher Mengen dieser Substanz im Gefolge. — Regelmässig tritt sie in grösserer Menge bei Ikterus auf und verschwindet wieder mit diesem (Obermayer); hier besteht der durch Essigsäure hervorgerufene Niederschlag zweifellos zum Teil aus taurocholsaurem Eiweiss. Vor allem erscheint der durch Essigsäure in der Kälte fällbare Eiweisskörper als integrierender Bestandteil bei der „physiologischen Albuminurie" (orthotische, orthostatische, zyklische, juvenile Albuminurie).

Im normalen Pferdeharn kommt eine der mucinähnlichen Substanz verwandte, von Eber untersuchte Verbindung vor. Nach Eber und Smith

[1]) Mörner, a. a. O. 418.

[2]) Mörner, a. a. O. 402. — Flensburg, Skandin. Archiv 4. 146. 1893. — Fr. Müller, Mitteil. a. d. med. Klinik zu Würzburg 1. 259. 1885. — F. Reissner, Virchows Archiv 24. 191. 1862. — J. Schreiber, Archiv f. exper. Pathol. 19. 255. 1885; 20. 86. 1886. — K. Pichler und V. Vogt, Zentralbl. f. i. Med. 15. Nr. 17. 1894. — F. v. Friedländer, Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. [3] 8. Suppl. 49. 1895.

Digitized by Google

beruht auf ihr die eigentümlich fadenziehende Beschaffenheit des Pferdeharns. Pflug und Sidangrotzky-Hofmeister machen Angaben über das Vorkommen einer mucinähnlichen Substanz im Harn von Rindern und Kühen, Ellenberger und Tereg [1]) über dasselbe bei Tieren überhaupt.

Während durch diese Untersuchungen Mörners die Verhältnisse für den normalen Harn aufgeklärt sein dürften, bestehen für das Verständnis derjenigen Zustände, in welchen erhebliche Mengen eines durch Essigsäure in der Kälte fällbaren Eiweisskörpers im Harn erscheinen, noch vielerlei Schwierigkeiten. Dieses mit Essigsäure fällbare Eiweiss wurde von Fr. Müller und v. Noorden anfangs als Mucin gedeutet. Obermeyer fand dann Phosphor im Essigsäureniederschlag. Dadurch glaubte man sich berechtigt, von einem „Nucleoalbumin des Harnes" zu sprechen. Mörner nimmt aber auch hier an, dass zum mindesten ein grosser Teil der Essigsäurefällung durch die eiweissfällenden Substanzen (Chondroitinschwefelsäure, Nucleinsäure, Taurocholsäure) niedergeschlagenes, gewöhnliches Eiweiss sei. Demgegenüber glauben Matsumoto, Rostoski, Calvo, Oswald[2]) den Nachweis geführt zu haben, dass es sich im wesentlichen um ein Gemenge von Euglobulin und Fibrinogen handele. Bei fraktionierten Aussalzen des Harnes, bei „physiologischer Albuminurie" ergab sich, dass eine diesen beiden Eiweisskörpern entsprechende Fraktion vorhanden war, die auch in isoliertem Zustande die Fällbarkeit durch Essigsäure bewährt hatte.

Auch Stähelin und Joachim hatten die Globulinnatur der durch Essigsäure fällbaren Eiweisskörper behauptet. Oswald hebt hervor, dass oft grosse Mengen dieses durch Essigsäure fällbaren Eiweiss ausgeschieden werden, und glaubt, dass die Menge der „eiweissfällenden Stoffe" zu gering sei, um diese Fällungen zu bewirken. Mörner[3]) leugnet die Beweiskraft der Aussalzungsversuche, da im Harn die Aussalzungsverhältnisse andere seien, wie in anderen Medien (z. B. Blutplasma).

Auf jeden Fall haben aber diese neueren Untersuchungen gezeigt, dass der Phosphor in diesen Essigsäureniederschlägen entweder ganz fehlt oder meist doch in sehr geringen Mengen vorhanden ist. Es handelt sich also bei der Untersuchung von Harnen, die mit Essigsäure eine stärkere Fällung geben, darum, festzustellen: 1. inwieweit ist eine Fällung von gewöhnlichen Eiweissstoffen durch die eiweissfällenden Substanzen des Harns vorhanden; 2. lässt sich der Nachweis führen, dass Euglobulin und Fibrinogen direkt beteiligt sind; 3. sind etwa phosphorreiche Eiweissstoffe beteiligt, die sich als Nucleoalbumine oder Nucleohistone charakterisieren lassen.

In betreff des Nachweises von Globulin und Fibrinogen s. vorher.

---

[1]) W. Eber, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1886. 564. — Ferd. Smith, Proc. Roy. Soc. **46.** 328. 1896. — Pflug, Die Krankheiten des uropostischen Systems unserer Haustiere 1876. — Sidangrotzky-Hofmeister, Die mikroskopische und chemische Diagnostik der Krankheiten der Haustiere 1884. — Ellenberger, Referat über die Ebersche Arbeit im Jahresber. üb. d. Leistungen d. Veterin.-Med. 1886. — Tereg, Artikel Harn in Ellenbergers Physiologie der Haussäugetiere.

[2]) Fr. Müller, Mitteil. a. d. Würzburger med. Klinik **1.** 259. 1885. — v. Noorden, Habilitationsschrift. Giessen 1895. Deutsches Archiv f. klin. Med. **38.** 205. 1896. — F. Obermeyer, Zentralbl. f. i. Med. **13.** 1. 1892. — Matsumoto, Deutsches Archiv f. klin. Med. **75.** 398. 1903. — Rostoski, Sitzungsber. d. physik. med. Gesellsch. 1902. 58. — A. Oswald, Hofmeisters Beiträge **5.** 234. 1904. — A. Calvo, Zeitschr. f. klin. Med. **51.** 502. 1903.

[3]) Stähelin, Münchner med. Wochenschr. 1902. Nr. 34. — Joachim, Pflügers Archiv **93.** 595. 1903. — K. A. H. Mörner, Hofmeisters Beiträge **5.** 524. 1904.

Digitized by Google

C. Die durch Essigsäure fällbaren Eiweissverbindungen (mit Chondroitinschwefelsäure etc.) im Sinne Mörners.

A. Eigenschaften. Mörner[1]) hat zu seiner Untersuchung Präparate verwendet, welche aus Harn dargestellt worden waren, der die Hellersche Eiweissprobe nicht in typischer Weise gab, die also in gewöhnlichem Sinne als eiweissfrei zu betrachten waren. Die Substanz war stets gefärbt, bisweilen ziemlich stark.

Die Eigenschaften des Nucleohiston sind unter D. gesondert beschrieben.

1. Nach den von Mörner angestellten Analysen erwiesen sich seine Präparate wesentlich als chondroitinschwefelsaures Albumin mit einer geringen Beimengung von Nucleoalbumin. Globulin war nach dem Schwefelgehalt in der Verbindung entweder gar nicht oder nur in unwesentlicher Menge enthalten.

Es wurde gefunden 48.95, 50,94 und 51,62% C, 13,30, 13,70 und 13,91% N, 2,43% Gesamtschwefel, 0,65 und 0,61% S in der Schwefelsäure und 0,08 und 0,1% P. Die Zusammensetzung der aus Eiweissharn erhaltenen Präparate und die eines Serumalbuminniederschlages, mit welcher die der Niederschläge aus normalem Harn nahe übereinstimmt, ist bei der Chondroitinschwefelsäure (s. dort), die der von Mme. Eliacheff analysierten bei den Ptomainen (s. dort) erwähnt.

In mucinähnlicher Substanz ist der Phosphor auch von Obermayer (in solcher aus ikterischem Harn) und von Fr. Müller nachgewiesen worden. Salkowski[2]) hat in einem schleimigen, nach der Reinigung so gut wie aschefreien Niederschlag, welcher sich von selbst aus einem Harn abgeschieden hatte, den Phosphorgehalt zu 1,79% bestimmt, was sehr gut für Nucleoalbumin stimmt.

2. Die von Mörner dargestellten Substanzen geben in feuchtem Zustand mit Wasser in Gegenwart von etwas fixem Alkali oder Ammoniak schon bei neutraler Reaktion leicht eine klare, gewöhnlich ziemlich stark braune Lösung. War die Substanz auf dem Wasserbad mit etwas Essigsäure eingetrocknet oder in trockenem Zustand auf 110—115° erhitzt worden, so quoll sie in verdünntem Ammoniak (0,02%) zwar auf, löste sich jedoch nicht immer vollständig; durch Erwärmen konnte sie aber in Lösung gebracht werden.

Die von Mme. Eliacheff gewonnene Substanz war sehr hygroskopisch und löste sich sehr leicht in Wasser, wenig in Alkohol und in Äther; sie besass saure Reaktion.

Die Substanz lässt sich aus dem Harn auch durch Alkohol (2 Volumen, Hofmeister)[3]) fällen; der Niederschlag ist grobflockig gallertig, unter dem Mikroskop höchst feinkörnig, fast homogen und löst sich in Wasser wieder mehr oder minder vollständig (Reissner, Hofmeister, Müller), was davon abzuhängen scheint, wie lang der Niederschlag im Alkohol verweilt hat.

[1]) Mörner l. c. 402.

[2]) Fr. Müller, Briefliche Mitteilung an Huppert vom 31. Januar 1895. — Salkowski, Virchows Archiv 131. 320. 1893.

[3]) Fr. Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Ch. 4. 261. 1880.

Digitized by Google

3. Die schwach ammoniakalische Lösung kann nach Mörner mit Essigsäure bis zu stark sauerer Reaktion versetzt werden, ehe eine Opalescenz eintritt, bei weiterem Zusatz der Säure wird sie opalescent und schliesslich gefällt. Neutralsalz kann die Fällung beeinträchtigen. Der abgeschiedene Niederschlag löst sich in Essigsäure sehr schwer, wird aber sogleich Säure im Überschuss zugesetzt, so kann die Substanz zuweilen schon mit 1% Essigsäure gelöst werden, ein anderes Mal waren 8% Essigsäure erforderlich. Für diese Löslichkeit ist die Verdünnung der Lösung von grosser Bedeutung. — Durch einen Zusatz von mehreren Vol. Eisessig wird die Lösung nicht gefällt. In einem Überschuss von Salzsäure ist die Substanz leicht löslich.

Mit diesen Tatsachen stimmen die älteren Erfahrungen überein. Nach Hofmeister gibt Esisgsäure mit der wässerigen Lösung des Alkoholniederschlages einen Niederschlag; an mucinähnlicher Substanz reicher Harn verhält sich ebenso (Reissner). Der Niederschlag löst sich nach Fr. Müller nur wenig in verdünnter überschüssiger Essigsäure, nach Reissner sowie nach Posner dagegen gut in Eisessig und nach Posner auch in konzentrierter Ameisensäure. Er löst sich gleichfalls leicht in Mineralsäuren (Reissner, Hofmeister, Müller) und deshalb geben diese nur dann einen Niederschlag, wenn sie in sehr geringer Menge angewandt werden. Kohlensäure gibt nach Müller nur eine sehr schwache Trübung und im Filtrat erzeugt Essigsäure noch einen Niederschlag. Neutralsalze beeinträchtigen die Fällung durch Essigsäure, der Niederschlag ist unvollständig.

Wie die Essigsäure gibt nach Reissner auch die Weinsäure mit Harnen, die reich an der Substanz sind, einen im Überschuss unlöslichen Niederschlag; Schwefelsäure, Salpetersäure (bei Abwesenheit von Eiweiss), Salzsäure, Phosphorsäure, Oxalsäure trüben solchen Harn nur, wenn sie sehr verdünnt oder in geringer Menge zugesetzt werden, ein Überschuss dieser Säuren bringt die Trübung sofort wieder zum Verschwinden. Zitronensäure trübt und klärt den Harn gleichfalls wieder, doch darf sie zur Erzielung einer Trübung in etwas grösserer Menge zugesetzt werden, als die genannten Säuren. Auch die durch Essigsäure oder Weinsäure erzeugte Trübung löst sich bald nach ihrer Entstehung in den genannten Mineralsäuren und in Oxalsäure wieder auf. — Die schleimige Substanz des Pferdeharns verhält sich nach Eber auch im wässerigen Auszug des Alkoholniederschlages gegen Säuren, wie die mucinähnliche Substanz des Menschenharns; nur löst auch die Zitronensäure hier im Überschuss den Niederschlag nicht wieder. — In betreff der Mineralsäuren (Salpetersäure, Salzsäure, Phosphorsäure) gelangte Müller zu dem gleichen Resultate wie Reissner.

Nach Posner [1]) gibt der koagulierte Anteil des Alkoholniederschlages nach dem Lösen in Essigsäure die Hellersche Eiweissprobe, viel von der Substanz enthaltender Harn gibt nach Reissner die Hellersche Probe.

Neutralsalze (Kochsalz, Salmiak, Salpeter, schwefelsaures und essigsaures Natron), sowie einfach- und zweifachsaures Natronphosphat hindern nach Reissner schon bei geringer Menge die Ausfällung der Substanz durch die Säuren. Harnstoff dagegen selbst in sehr grosser Menge nicht. Essigsaures Natron bringt eine bereits vorhandene Trübung leicht und vollständig wieder zum Verschwinden, während die anderen Neutralsalze den Niederschlag nicht ganz vollständig wieder lösen. Auch den Schleimstoff des Pferdeharnes löst das Natriumacetat nach Eber leicht, während ihn Magnesiumsulfat und Natriumsulfat unverändert lassen.

Wegen der lösenden Wirkung der Salze, namentlich des Acetats, ist die durch Essigsäure bewirkte Trübung nach Reissner in nativem Harn nicht so

[1]) C. Posner, Virchows Archiv **104**. 502. 1886.

Digitized by Google

stark, als in stark verdünntem; fügt man einem Harn, der sich mit Essigsäure trübt, anderem, der es nicht tut, hinzu, so kann in der Mischung die Trübung durch Essigsäure ausbleiben. Auch setzt sich der Niederschlag aus nativem Harn meist nicht in filtrierbarem Zustand ab, wohl aber aus verdünntem.

Der mit Essigsäure aus Harn gefällte Körper löst sich in Kalilauge und wird aus dieser Lösung durch Essigsäure wieder gefällt (Schreiber).

4. Die neutrale oder mit Essigsäure schwach angesäuerte Lösung bleibt nach Mörner beim Kochen gewöhnlich entweder unverändert oder wird nur schwach getrübt. Ebenso verhält sich eine mit etwa dem gleichen Volumen gesättigter Kochsalzlösung versetzte Lösung. Selbst nach dem Zusatz von Essigsäure bis zur schwachen Opalescenz wird die Lösung nur getrübt. Auch die Koagulation von zugesetztem Blutserum wird erschwert. Zuweilen tritt aber beim Aufkochen der schwach angesäuerten Lösung ein flockiger Niederschlag ein. Diese Verschiedenheit im Verhalten beim Kochen der Lösung ist ausser durch verschiedene Konzentration derselben bedingt durch eine Verschiedenheit im Verhältnis zwischen der eiweissfällenden Substanz und dem Eiweiss in der Verbindung. Bei unreiner, direkt aus Harn erhaltener Substanz kann sich an der Koagulation auch beigemengtes Eiweiss beteiligen.

Nach Hofmeister gibt eine wässerige Lösung des Alkoholniederschlages beim Kochen eine starke Trübung, welche auf Essigsäurezusatz flockig wird. Die Trübung tritt bei 74—76° ein und wird in der Siedehitze (ohne Essigsäure) nicht stärker (Müller).

Nach Müller wird die Substanz beim Kochen auf Essigsäurezusatz sofort gefällt. Der Niederschlag löst sich nicht in Wasser, auch nicht in Essigsäure, wenn sie nicht in sehr grossem Überschuss angewandt wird, dagegen leicht in kohlensauren und kaustischen Alkalien. Diese Lösung gibt beim Neutralisieren mit Essigsäure einen Niederschlag, der, wie Protein, vom geringsten Überschuss an Essigsäure wieder gelöst wird. Kocht man eine Lösung der Substanz für sich, so gibt das Filtrat nach Müller mit Essigsäure noch einen beträchtlichen Niederschlag. — Die durch Essigsäure aus heissem Harn gefällten Flocken lösen sich nach Reissner leicht in Salzsäure.

Kochen verändert an mucinähnlicher Substanz reichen Harn nach Reissner nicht, fügt man aber dem noch heissen Harn Essigsäure hinzu, so bilden sich nach wenig Augenblicken Flocken. Der in der Kälte durch Essigsäure getrübte Harn bleibt dagegen beim Kochen unverändert. Setzt man einem gekochten Harn nach dem Erkalten Essigsäure zu, so trübt er sich bloss. Enthält der Harn zugleich Eiweiss und filtriert man den beim Kochen entstandenen Niederschlag ab, so erhält man im Filtrat mit Essigsäure manchmal eine Trübung, welche noch ebenso stark sein kann, wie im ungekochten Harn (Müller), oft eine viel geringere und manchmal selbst gar keine (Reissner).

5. Sämtliche Harne, welche durch Essigsäure gefällt werden konnten, gaben nach Müller, wenn sie bei 30° mit Magnesiumsulfat gesättigt wurden, auch nach dem „Neutralisieren" mit einfach saurem Phosphat, flockige Niederschläge. Dieselben lösten sich nach dem Waschen mit konzentrierter Magnesiumsulfatlösung leicht und fast vollständig in Wasser, die gelbliche Lösung gab mit Essigsäure einen flockigen Niederschlag, der in Essigsäure kaum, dagegen in kohlensaurem Natron leicht löslich war, und trübte sich beim Kochen. Wiederholtes Fällen des Körpers mit Magnesiumsulfat ändert seine Eigenschaften nicht. Bei der Dialyse löst sich der Bittersalzniederschlag zuerst, dann tritt Trübung ein

Digitized by Google

und im Filtrat gibt Essigsäure kaum noch eine weitere Trübung, so dass es scheint, als ob die Substanz durch Entziehung des lösenden Neutralsalzes ausgefallen sei.

Nach dem Sättigen der Harne mit Magnesiumsulfat erhielt Müller im Filtrat durch Essigsäure keine Trübung mehr, dagegen erzeugte Sättigen der mit Essigsäure ausgefällten Lösung der Substanz mit Bittersalz noch reichliche Trübung. Sättigen mit Kochsalz fällt die Substanz unvollständig, im Filtrat bewirkt Essigsäure noch einen Niederschlag. — v. Noorden [1]) sah in gekochtem Harn durch Essigsäure noch Trübung auftreten, während Sättigen mit Magnesiumsulfat keine hervorrief.

6. Bei Anstellung der Hellerschen Eiweissprobe mit einer 0,05%igen Lösung entsteht nach Mörner sogleich ein scharf begrenzter Ring dicht bei der Salpetersäure, etwa 1 cm darüber tritt ein anderer, weniger scharf begrenzter Ring auf. In einer mit Essigsäure versetzten Lösung erscheint nur der erstere Ring (s. S. 1166).

7. Die mucinähnliche Substanz gibt die sog. Alkaloidreaktionen der Eiweisskörper. Eine Lösung der reinen Substanz wird nach Mörner gefällt durch Metaphosphorsäure, Sulfosalicylsäure, Trichloressigsäure, Esbachs Reagens. Tannin gibt für sich oder in Gegenwart von Kochsalz einen reichlichen Niederschlag. Die mit einem Überschuss von Essigsäure versetzte Lösung wird, ausser durch diese Säuren, niedergeschlagen durch Pikrinsäure, Jodjodkalium, Jodquecksilberkalium, geringe Mengen Ferrocyankalium und durch Chondroitinschwefelsäure. Eine Lösung in einem geringen Überschuss von Salzsäure gibt mit wenig Ferrocyankalium, sowie mit Jodquecksilberkalium einen reichlichen Niederschlag, mit Sublimat und Kochsalz eine Trübung oder einen Niederschlag.

Hiermit stimmt das Verhalten der rohen, aus Harn erhaltenen Substanz überein. Ferrocyankalium fällt nach Reissner die essigsaure, nach Müller die salzsaure Lösung der Substanz, nach Posner auch die essigsaure Lösung des unter Alkohol unlöslich gewordenen Anteils. Auch der beim Fällen einer Lösung der Substanz mit Essigsäure in Lösung bleibende Rest wird durch Ferrocyankalium niedergeschlagen (Müller). Der Körper wird nach Hofmeister, Müller u. a. ferner gefällt durch Tannin, durch Phosphorwolframsäure, der unter Alkohol unlöslich gewordene Anteil in essigsaurer Lösung nach Posner auch fast konstant durch Metaphosphorsäure, manchmal durch Pikrinsäure, häufig durch Jodquecksilberkalium, stets durch Quecksilberchlorid. — Im Harn gibt Ferrocyankalium nach Zusatz von Essigsäure oder Salzsäure keinen Niederschlag (Reissner). Nach Stewart geben normale Harne häufig mit Pikrinsäure, Trichloressigsäure, dem Sebelienschen, Tanretschen und Millardschen Reagens (Schichtprobe) Niederschläge. Nach Martin [2]) wird Nucleoalbumin durch Trichloressigsäure gefällt wie echte Eiweisskörper. — Die von Mme. Eliacheff dargestellte Substanz wird durch Tannin flockig gefällt.

8. Die reine Substanz gibt die Farbenreaktionen des Eiweisses, nach Mörner die Probe von Millon, von Adamkiewicz

[1]) v. Noorden, Berliner klin. Wochenschr. 15. 1886. 238.

[2]) D. D. Stewart, Med. News 1894. 29; Jahresber. f. Tierch. 1894. 306. — C. J. Martin, Journ. of Physiol. 15. 377.

Digitized by Google

und die Biuretprobe, die Biuretprobe aber wegen der Eigenfärbung der Lösung oft undeutlich.

Mit der rohen Substanz wurden beobachtet die Biuretreaktion (Hofmeister, Müller, Eber, Posner), die Xanthoproteinreaktion (Eber), die Millonsche Reaktion (Eber), die Proben von Adamkiewicz (Posner), Liebermann (Reissner, Posner), Axenfeld (Posner)[1]). Müller erhielt mit dem mucinähnlichen Körper „alle Eiweissreaktionen mit Einschluss der Biuretreaktion".

9. Von Fällungen durch Metallsalze ist ausser den den Alkaloidreaktionen angehörigen nur die durch Bleizucker bekannt (Hofmeister, Müller).

10. Bei längerem Erwärmen mit (ungefähr 5%) Salzsäure im Wasserbad, aber keineswegs schon beim Aufkochen, spaltet sich von der reinen Substanz nach Mörner Schwefelsäure ab und entsteht zu gleicher Zeit eine Kupferoxyd in alkalischer Lösung reduzierende Substanz.

Die Bildung des reduzierenden Körpers beim Kochen der rohen Verbindung mit verdünnter Mineralsäure (2%iger Schwefelsäure) ist von Müller und Schreiber nicht wahrgenommen worden. Wenn diese Reaktion bei genügend langem Erhitzen ausgeblieben wäre, so könnte der negative Befund darin seinen Grund haben, dass die verwendete Substanz keine Verbindung der Chondroitinschwefelsäure gewesen wäre. Das von Salkowski untersuchte Nucleoalbumin aus Harn gab die reduzierende Substanz bestimmt nicht. — Die von Mme. Eliacheff untersuchte Substanz reduzierte Goldchlorid, Platinchlorid, Sublimat, sowie Silbernitrat in der Kälte, aber nicht Eisenchlorid; die mit Eisenchlorid versetzte Lösung gab mit Ferricyankalium keinen blauen Niederschlag.

B. Nachweis. 1. Trübt sich ein Harn auf Zusatz überschüssiger Essigsäure, namentlich nach dem Verdünnen, so darf die mucinähnliche Substanz als gegenwärtig angenommen werden.

Die Verdünnung des Harns vor dem Zusatz der Essigsäure verhütet nicht nur eine Verwechselung mit einem Uratniederschlag, sondern beschränkt auch die lösende Wirkung der Harnsalze auf den Eiweisskörper.

2. Schüttelt man (normalen) mit Essigsäure stark angesäuerten Harn mit Äther oder Chloroform oder Äthylalkohol, so bildet sich nach Plóss[2]) an der Grenzschicht beider Flüssigkeiten ein Häutchen oder ein sulziger Niederschlag von der mucinähnlichen Substanz.

3. Die Hellersche Eiweissprobe zeigt die mucinähnliche Substanz gleichfalls an. Entsteht nach dem Schichten von Harn auf konzentrierte Salpetersäure an der Berührungsstelle ein weisser Saum, so nimmt man die Gegenwart von gewöhnlichem Eiweiss an. Die mucinähnliche Substanz wird dagegen nach Mörner[3]) angezeigt durch eine schwache, ringförmige oder diffuse Trübung, welche 0,5—1 cm oberhalb der Salpetersäure liegt; sie kann sich auch gegen die Salpetersäure herab erstrecken. Eine ähnliche Trübung kann in harnsäurereichen Harnen durch Ausscheidung dieser Säure entstehen; die Harnsäureaus-

[1]) Posner, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1887. 420.
[2]) P Plóss, Orvosi hetilap 1890. 504; Jahrb. f. Tierch. 1890. 215.
[3]) Mörner, a. a. O. 402.

Digitized by Google

scheidung bleibt aber nach dem Verdünnen des Harns mit 2—3 Vol. Wasser aus, während die Trübung, welche von der mucinähnlichen Substanz herrührt, im verdünnten Harn bisweilen deutlicher ist als im unverdünnten. Die Trübung tritt auch in eiweisshaltigem Harn (neben dem Eiweissring) auf.

Es kann aber auch, wie Mörner [1]) beobachtet hat, in einem Harn, der arm an mucinähnlicher Substanz ist und eiweissfällende Substanz im Überschuss enthält, eine typische Hellersche Reaktion eintreten, wenn auch nur schwach. Nicht selten kann man nach Mörner oberhalb der Salpetersäure eine schwache diffuse Trübung und in dieser bisweilen eine Ausscheidung von Harnsäure wahrnehmen. — Statt der Salpetersäure kann man sich für diese Reaktion ebensogut jeder anderen Säure bedienen, es handelt sich dabei um eine Neutralisationsreaktion.

4. Nach Hammarsten [2]) kann man zur Trennung bezw. zum Nachweis der verschiedenen hier in Betracht kommenden Substanzen folgendermassen vorgehen:

Man unterwirft zunächst grössere Mengen Harn unter Zusatz von Chloroform der Dialyse. Darauf setzt man Essigsäure bis etwa 0,2% hinzu und lässt stehen. Der durch Abgiessen gewonnene Niederschlag wird in möglichst wenig Alkali gelöst und nochmals mit Säure gefällt. Nunmehr wird die Substanz mit 5% Salzsäure längere Zeit auf dem Wasserbad gekocht und dann die Flüssigkeit mit Baryt auf etwa freigewordene Schwefelsäure sowie auf ihr Reduktionsvermögen geprüft. Ist Reduktionsvermögen vorhanden und fehlt die freigewordene Schwefelsäure, so kann man auf Mucin schliessen, ist Schwefelsäure und Reduktion vorhanden, so ist das Mörnersche Chondroproteid vorhanden. Gelingt der Nachweis von Phosphor in deutlichen Mengen, so kann die Mörnersche Nucleinsäure-Eiweissverbindung oder echte Nucleoproteide im Niederschlag vorhanden gewesen sein. Die Unterscheidung dieser phosphorhaltigen Eiweissstoffe siehe später.

5. Lecorché und Talamon [3]) schichten den Harn auf eine sirupdicke Lösung von Zitronensäure; eine Trübung an der Grenzschicht zeigt die mucinähnliche Substanz an.

6. Ott [4]) versetzt eiweissfreien Harn zum Nachweis der mucinähnlichen Substanz mit dem gleichen Volumen gesättigter Kochsalzlösung und darauf mit Almenscher (essigsäurehaltiger) Tanninlösung.

7. Für eine nähere Untersuchung der Substanz ist eine Abscheidung derselben notwendig; man befolgt dabei die für die Darstellung des Chondroalbumins gegebene Vorschrift. Über die Art, wie die einzelnen eiweissfällenden Säuren in den Niederschlägen aufzusuchen sind,

[1]) Mörner a. a. O. 418.
[2]) O. Hammarsten, Lehrb. d. physiol. Ch. 6. Aufl. 1907.
[3]) E. Lecorché und Ch. Talamon, Traité de l'Albuminurie. Paris 1888. 82.
[4]) A. Ott, Prager Zeitschr. f. Heilk. 16. 177. 1895.

Digitized by Google

ist bei der Chondroitinschwefelsäure, der Gallensäure und der Nucleinsäure berichtet.

D. Phosphorproteide des Harns.

A. Vorkommen. Wenn auch durch die Untersuchungen Mörners gezeigt ist, dass die früheren häufigeren Angaben über Vorkommen von Nucleoproteiden (Nucleoalbumin, Nucleohiston) zum grossen Teil auf Täuschung beruhten, so ist doch nicht daran zu zweifeln, dass gelegentlich echte Nucleoproteide im Harn auftreten.

So sind Fälle von echter Nucleoalbuminurie bei Chlorose (**v.** Noorden), perniciöser Anämie (R. Schmidt), myelogener Leukämie (F. Müller, v. Noorden, Taylor), sowie bei lymphatischer Leukämie (Taylor, v. Steijskal und Erben) beschrieben worden. Salkowski [1]) beschreibt bei Chylurie einen Eiweisskörper, der „sich vollständig wie Casein verhielt."

Nucleohiston, welches einen grossen Prozentsatz der Trockensubstanz der Leucocyten ausmacht, ist von Jolles [2]) in einem Fall von Pseudoleukämie gefunden worden.

Kolisch und Burian [3]) fanden bei Lymphämie zwar Histon, vermissten aber Nucleohiston. Taylor hat sowohl Histon als auch Nucleohiston in zwei Fällen von Leukämie und in einem Fall von perniciöser Anämie vergebens gesucht.

Mme. Eliacheff hat nach vollständiger Dialyse des Harns undialysierbare N, P und S enthaltende Substanzen erhalten, welche vielleicht als Verbindungen dieser Art anzusehen sind. Obermayer [4]) wies zuerst P im Essigsäureniederschlag des Harns nach.

Es liegt nahe daran, zu denken, dass solche Nucleoproteide abstammen von Nucleoproteiden des Nierengewebes oder von zerfallenden Leucocyten. Die Beobachtungen von Matsumoto zeigen aber, dass es Fälle von Nephritis gibt mit reichlicher Abscheidung epithelialer Cylinder, in welchen kein Nucleoproteid im Harn nachgewiesen ist, und umgekehrt kann man letzteres beobachten, ohne dass Cylinder vorhanden sind. Auch bei längerem Stehen treten aus Epithelialcylindern und Leucocyten, selbst wenn der Harn durch Soda alkalisch gemacht wurde, keine Nucleoproteide in erheblichen Mengen in den Harn über.

Andererseits ist aber an der Tatsache, dass sowohl das Nierengewebe als auch die Leucocyten Nucleoproteide liefern können, nicht zu zweifeln, nur dass es sich hier nicht um einen einfachen Auslaugungsvorgang handeln kann.

Matsumoto extrahierte mit schwach alkalischer Sodalösung aus Schweinsnieren ein Nucleoproteid, das ausserordentlich leicht durch Ammonsulfat aussalzbar war. Die Fällung beginnt mit 1—8% Sättigung und endet bei 16—22%. Oswald [5]) fand in der „Albuminfraktion" des Wasserextraktes menschlicher Nieren ein „Albumin" mit 0,19% Phosphor.

---

[1]) K. v. Noorden, Die Bleichsucht. Wien 1897. — R. Schmidt, Zeitschr. f. klin. Med. 34. — F. Müller, Mitteil. d. Würzburger med. Klinik 1884. 266. — A. E. Taylor, Zentralbl. f. i. Med. 1897. 873. — v. Steijskal und Erben, Zeitschr. f. klin. Med. 39. — E. Salkowski, Berliner klin. Wochenschr. 44. 51. 1907.

[2]) A. Jolles, Zeitschr. f. klin. Med. 34. — Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 30. 172. 1897. —

[3]) R. Kolisch und R. Burian, Zeitschr. f. klin. Med. 29. 378. 1896. — Taylor l. c.

[4]) Mme. P. Eliacheff, Mém. de la Soc. de Biol. [9] 3. 71. 1881. — Obermayer l. c.

[5]) Matsumoto l. c. S. 401. — A. Oswald l. c. S. 244.

Digitized by Google

In der Katzenniere wies **Halliburton** ein Nucleoalbumin mit 0,37% P, Koagulationstemperatur 63°, nach.

B. Eigenschaften. I. Nucleoalbumine. Unter diesem Namen versteht man eine Reihe phosphorhaltiger Eiweissstoffe, deren Phosphor in komplexer Form abgeschieden werden kann. Sie unterscheiden sich von den echten Nucleoproteiden dadurch, dass sich bei der Spaltung weder Nucleinsäure, noch deren charakteristische Spaltungsprodukte (Pentose, Purin- und Pyrimidinbasen) abspalten lassen.

1. Die Nucleoalbumine sind ausgesprochene Säuren; sie röten Lackmuspapier, sind in Wasser als solche nicht löslich, sehr leicht dagegen in Form ihrer Salze mit Alkalien oder Ammoniak. Durch Säuren werden sie aus diesen Lösungen frei gemacht und gefällt. Die Lösungen ihrer Salze sind nicht koagulierbar und können daher ohne Veränderung gekocht werden. Bei so schwach saurer Reaktion, dass gerade das Nucleoalbumin noch nicht ausfällt, lässt sich dagegen bei vielen Nucleoalbuminen eine deutliche Koagulation bei bestimmter Temperatur nachweisen.

2. Die Nucleoalbumine haben grosse Ähnlichkeit mit den Globulinen bezw. deren Alkalialbuminaten. Cohnheim hat daher den Namen Phosphorglobuline für sie vorgeschlagen, um auch besonders hervorzuheben, dass sie mit den echten Nucleoproteiden keine nähere Verwandschaft haben, da sie im Gegensatz zu diesen als Verbindungen von Eiweiss mit einem nicht näher bekannten phosphorhaltigen, eiweissartigen Komplex aufzufassen sind.

3. Bei Einwirkung von Pepsinsalzsäure wird das Nucleoalbumin zunächst gelöst und zum Teil schon in Albumosen umgewandelt. Dann wird ein phosphorhaltiger Komplex abgespalten und zunächst abgeschieden; in einem dritten Stadium wird dieser Niederschlag (Paranucleinsäure) wieder gelöst, während die Peptonisation des übrigen Nucleoalbumins fortschreitet. Orthophosphorsäure wird hierbei nicht abgespalten, wohl aber bei der Trypsinverdauung.

Typische Vertreter der Nucleoalbumine sind das **Casein** der Milch, das Vitellin des Eigelbs, sowie die Nucleoalbumine verschiedener Arten von Zellprotoplasma.

Aus dem Nierengewebe lässt sich ein solches Nucleoalbumin extrahieren (**Halliburton, Matsumoto, Oswald**), s. vorher.

4. Dem Nachweis solcher Nucleoalbumine im Harn hätte eine Darstellung in genügenden Mengen vorauszugehen. An dem dargestellten (durch Essigsäurefällung, eventuell auch durch Aussalzen) Eiweissstoffe wäre dann das Verhalten gegenüber Pepsinsalzsäure, sowie bei der Spaltung mit Salzsäure zu prüfen. Der Nachweis des P-Gehaltes allein genügt nicht, um mit Sicherheit die Natur des betreffenden Eiweissstoffes zu charakterisieren.

Digitized by Google

II Nukleoproteide. Mit diesem Namen werden Verbindungen von Nucleinsäure mit Eiweiss bezeichnet. Über die Zusammensetzung der Nucleinsäure siehe dort.

1. Die Nucleoproteide haben ausgesprochen sauren Charakter, sind in Wasser und Salzlösungen, sowie namentlich in Alkalien löslich. Durch Säuren werden sie gefällt, im Überschuss, besonders durch Mineralsäuren, wieder gelöst. Die Aussalzungsgrenzen sind bei den Nucleoproteiden verschiedener Herkunft verschieden. Durch Hitze und andere Mittel werden die Nucleoproteide, wie die nativen Eiweissstoffe, denaturiert und koaguliert. Sie geben die gewöhnlichen Farbenreaktionen der Eiweissstoffe und werden durch die gewöhnlichen Fällungsmittel gefällt. Bei Spaltungen geben sie neben den gewöhnlichen Spaltungsprodukten der Eiweissstoffe die Spaltungsprodukte der Nucleinsäure, die Nucleinbasen und vor allem Phosphorsäure.

2. Bei allen Spaltungen wird zunächst nur ein Teil des Eiweisses abgespalten, so dass eine Verbindung des Eiweissrestes mit Nucleinsäure, das sog. Nuclein, zurückbleibt. Diese Nucleine enthalten 4—7% P, sind im Magensaft schwer löslich, dagegen leicht löslich durch Trypsin.

3. Bei Einwirkung von Pepsinsalzsäure wird zunächst Eiweiss abgespalten, welches zu Albumosen und Peptonen weiter gespalten wird. Das entstehende Nuclein fällt aus. Dieser Nucleinniederschlag hat neben der Feststellung des Gehaltes an P und an Nucleinbasen zur Entdeckung der Nucleinproteide geführt. Auf diesen Eigenschaften hat auch der exakte Nachweis der Nucleoproteide im Harn zu fussen. Das Nuclein ist in guter Pepsinsalzsäure nicht ganz unlöslich. Der Niederschlag, der bei der Pepsinverdauung entsteht, kann aus Nuclein oder aber auch aus Nucleinsäure bestehen. In letzterem Falle ist also alles Eiweiss von der Nucleinsäure abgespalten. — Durch Trypsin werden die Nucleoproteide gelöst; es gehen Peptone, Aminosäuren und Nucleinsäure in Lösung.

III. Nucleohiston. Ein besonderer Vertreter der Nucleoproteide ist das Nucleohiston. Nucleohistone kommen vor in den Vogelblutkörperchen, in Leucocyten, in unreifen Testikeln verschiedener Fische. Durch Lilienfeld wurde zuerst das Nucleohiston aus Thymusleucocyten dargestellt. Durch spätere Untersucher wurde aber festgestellt, dass das Lilienfeldsche Nucleohiston aus zwei verschiedenen Nucleoproteiden besteht (Malengreau, Huiskamp, Bang)[1]).

[1]) L. Lilienfeld, Zeitschr. f. physiol. Ch. 18. 473. 1894. — F. Malengreau, La Cellule 17. 339. 1900. — W. Huiskamp, Zeitschr. f. physiol. Ch. 32. 145. 1901; 34. 32. 1902; 39. 55. 1903. — J. Bang, Hofmeisters Beiträge 4. 115. 1903; 4. 331. 1903.

Digitized by Google

Nach Huiskamp soll das eine Nucleoproteid das wahre Nucleohiston im Sinne Lilienfelds sein, das andere soll kein Histon enthalten.

Das etwas anders dargestellte nucleinsaure Histon von Bang stimmt in seinen wesentlichen Eigenschaften mit dem Nucleohiston Huiskamps überein.

1. Das eigentliche Nucleohiston Huiskamps hat die Zusammensetzung C 48,8, H 7,03, N 18,37, SO 51, P 3,7%. Es gibt ein Ca-Salz (mit 1,3% Ca), welches in Wasser wenig, in Chlorcalciumlösung gar nicht löslich ist. In stärkerer Salzlösung und vor allem in Ammoniak ist dieses Ca-Salz dagegen leichter löslich. Die Alkaliverbindungen des Nucleohistons sind in Wasser löslich; durch Zusatz von Essigsäure fällt aus diesen Lösungen das Nucleohiston aus. Dies ist in Wasser unlöslich. Das Nucleohiston löst sich nicht in 0,9%iger Kochsalzlösung, wohl aber in konzentrierterer. Die Fällungsgrenzen des Nucleohistons für Ammoniumsulfat sind 5,6 und 7,2, nach der durch die Hofmeistersche Schule eingeführten Bezeichnungsweise (s. S. 1087).

2. Die Drehung des Nucleohistons beträgt nach Lilienfeld $\alpha_D = +37{,}58^0$ (Gamgee und Jones)[1].

3. Das unreine Lilienfeldsche Nucleohiston hat in manchen Dingen abweichende Eigenschaften, die durch die Beimengungen bedingt sind. Zur Charakterisierung eines Phosphorproteids als Nucleohiston ist der Nachweis der Spaltungsprodukte, Nucleinsäure und Histon erforderlich.

4. Durch Zusatz von Kochsalz kann man eine wässerige Lösung des Nucleohistons in Alkali teilweise fällen. Man findet, dass bei einem Gehalt von 0,25% NaCl eine schwache, aber deutliche Opalescenz eintritt, welche bei 0,5% stärker wird; nach einiger Zeit tritt schon hier ein Niederschlag ein, der bei 0,7—0,8% NaCl sich noch vermehrt; bei Zusatz von über 1,25% löst er sich wieder auf. Bei weiterer Sättigung erhält man von 15% an wieder einen Niederschlag, jedoch ist dabei gleichzeitig eine Spaltung des nucleinsauren Histons eingetreten (Bang). Ammoniak von 5—6%, sowie Natronlauge von 20% ab, zerlegen das nucleinsaure Histon unter Ausfällung des Histons.

Nachweis des Nucleohistons. Derselbe hat durch den Nachweis des Auftretens von Nucleinsäure und von Histon bei der Spaltung zu geschehen (s. dort).

---

[1]) A. Gamgee und W. Jones, Hofmeisters Beiträge 4. 10. 1903.

Digitized by Google

IV. Anhang. Das Histon.

Das Histon ist zuerst von Kossel aus den Kernen der Gänseblutkörperchen dargestellt worden. Es findet sich auch in der Thymusdrüse, in den Spermatozoen einiger Fischarten. Auch das aus Hämoglobin darstellbare Globin rechnet zu der Klasse der Histone (Schulz). Die Histone stehen zwischen den eigentlichen Eiweissstoffen und den Protaminen (Kossel und Pringle). Sie sind durch basische Reaktion, den hohen N-gehalt (17—20%), sowie dadurch, dass sie bei der Hydrolyse reichliche Mengen von Hexonbasen ergeben, gekennzeichnet (Kossel und Kutscher). Die Histone kommen in den Zellkernen gebunden an Nucleinsäure bzw. Nuclein vor (Lilienfeld). Im Harn eines leukämischen wurde freies Histon nachgewiesen (Kolisch und Burian)[1]).

A. Eigenschaften. 1. Es ist in Wasser löslich, wird aus der konzentrierten Lösung durch Alkohol gefällt; der Niederschlag löst sich wieder in Wasser. Wird bei der Dialyse zurückgehalten. Die wässerige Lösung des Histons aus den Gänseblutkörperchen koaguliert nicht beim Kochen (Kossel), das Histon aus den Leucocyten gibt dabei aber einen Niederschlag, welcher in Mineralsäure sehr leicht löslich ist (Lilienfeld)[2]).

2. Die neutrale Lösung wird mehr oder minder vollständig gefällt durch Lösen von Ammonsulfat, Magnesiumsulfat, Chlorammon, Chlornatrium, Natriumcarbonat in derselben; ferner durch Ammoniak, Kalkwasser und Natronlauge (im Überschuss löslich); nicht gefällt oder nur getrübt durch einfach saures Natriumphosphat, Chlorcalcium, die Bleiacetate, Quecksilberchlorid, Essigsäure, Schwefelsäure. Salpetersäure gibt einen Niederschlag, welcher beim Erwärmen verschwindet und beim Erkalten wieder auftritt.

3. Aus der salzsauren Lösung fällt auf Zusatz von Ammoniak ein (auch in überschüssigem Ammoniak) völlig unlöslicher Niederschlag (Kossel). Dieser Niederschlag löst sich in verdünnter Salzsäure, und auf Zusatz von Alkohol und Äther entsteht ein in Wasser löslicher Niederschlag von salzsaurem Histon (Lilienfeld).

Der Ammoniakniederschlag gab 52,31% C, 7,09% H und 18,46% N.

4. Im Gegensatz zu den Eiweisskörpern wird das Histon (wie das Protamin) nach Mathews[3]) aus neutraler wässeriger Lösung gefällt durch Ferrocyankalium, Kaliumdichromat und pikrinsaures Na-

---

[1]) A. Kossel und H. Pringle, Zeitschr. f. physiol. Ch. **49**. 307. 1906. — A. Kossel und F. Kutscher, Ebenda **31**. 188. 1900. — Fr. N. Schulz, Ebenda **24**. 449. 1898. — Kolisch und Burian, Zeitschr. f. klin. Med. **29**. 374.

[2]) A. Kossel, Zeitschr. f. physiol. Ch. 8. 511. 1884. — L. Lilienfeld, Ebenda **18**. 482. 1893; Du Bois Archiv 1892. 170 u. 551. — Kossel, Sitzungsber. d. Gesellsch. z. Beförderung d. gesamt. Naturwissensch. zu Marburg 1897. 58

[3]) A. Mathews, Ztschr. f. physiol. Ch. **23**. 402. 1897.

Digitized by Google

trium, ferner durch alkalisches oder neutrales wolframsaures Natron und durch Jodjodkalium.

5. Histon gibt die Biuretreaktion.

6. Neutrale Histon- oder Histonsalzlösungen erzeugen in salzarmer Lösung von Eiweisskörpern (Ovalbumin, Eiereiweiss, Serumalbumin, Serumglobulin, Blutserum) einen Niederschlag. Der entstandene Niederschlag ist in 10% NaCl-Lösung und in Alkalien löslich (Bang)[1].

E. Der Bence-Jonessche Eiweisskörper.

A. Vorkommen. Dieser eigentümliche Eiweisskörper, den man längere Zeit fälschlich zu den Albumosen gerechnet hat (Kühne) (Huppert bezeichnet ihn als Heteroalbumose des Harns), wurde im Jahre 1848 zum ersten Male im Harn eines Kranken von Bence-Jones beobachtet und chemisch eingehender charakterisiert. Der Körper ist fast immer leicht dadurch nachzuweisen, dass er beim Erwärmen des Harns bei mittlerer Temperatur (40—60°), je nach dem Salzgehalt und Säuregrad des Harns, ausfällt und beim weiteren Erwärmen zum Sieden ganz oder teilweise wieder in Lösung geht. Der Bence-Jonessche Eiweisskörper ist nicht so selten, wie man anfangs glaubte. Trotz des so charakteristischen Verhaltens beim Erwärmen waren im Jahre 1898 nur 7 Fälle beschrieben (Ellinger). Im Jahre 1907 waren schon mehr als 100 Fälle bekannt (Mohr)[2]. Auch in neuester Zeit sind zahlreiche weitere Beobachtungen veröffentlicht worden, die im einzelnen nicht aufgezählt werden können.

Was klinisch diesen Eiweisskörper so interessant macht, ist dessen diagnostische Bedeutung. Kahler machte zuerst darauf aufmerksam, dass in den damals bekannten Fällen es sich um Erkrankungen an Myelomatose (multiplen Myelomen, Osteosarkome) handelte, eine Erkrankung, welche früher öfters mit Osteomalacie verwechselt worden ist. Bei fast allen bis jetzt bekannten Fällen handelt es sich ebenfalls um diese Knochenmarkserkrankung. Nur wenige Ausnahmen sind bekannt, und diese zum Teil nicht völlig aufgeklärt. In einem Falle von Raschke soll es sich tatsächlich um eine schwere Osteomalacie gehandelt haben, ebenso in einem Falle von Jochmann

[1]) J. Bang, Zeitschr. f. physiol. Ch. **27**. 463. 1899.

[2]) H. Bence-Jones, Philosoph. Transact. 1848. 1. 55; Ann. d. Ch. u. Pharm. **67**. 97. — W. Kühne, Verhandl. d. naturhist. med. Vereins zu Heidelberg, **2**. Heft 1; Zeitschr. f. Biol. **19**. 209. 1883; **20**. 40. 1884. — Huppert, Prager med. Wochenschr. 4. 1889; Zeitschr. f. physiol. Ch. **22**. 501. 1897. — A. Ellinger, Deutsches Archiv f. klin. Med. **62**. 255. 1898. — L. Mohr, v. Noordens Handb. d. Pathol. d. Stoffwechsels II. 864. 1907.

Digitized by Google

und Schumm und von Gascard. Askanazy sowie v. Decastello[1]) beschreiben Fälle von Lymphämie mit lymphoider Hyperplasie, bei denen ebenfalls dieser Eiweisskörper auftrat.

Ausser im Harn ist der Eiweisskörper nachgewiesen im Mark des kranken Knochen (Parkes-Weber, Hutchinson, Macleod), im Blut, Lymphdrüsen, Exsudatflüssigkeit (Ellinger)[2]).

Die Mengen des Bence-Jonesschen Eiweisskörpers schwanken in den beschriebenen Fällen zwischen $^1/_4$—$^1/_2$ $^0/_{00}$ und 6,7 $^0/_0$ (Bence-Jones). Mitunter verschwindet er eine Zeitlang aus dem Harn, um später wieder zu erscheinen. Die Höhe der Ausscheidung veranlasste Magnus-Levy zu der Annahme, dass der Körper direkt oder indirekt aus der Nahrung stamme. Die vorliegenden Stoffwechseluntersuchungen haben nicht zu unzweideutigen Ergebnissen geführt. Voit und Salvendi fanden, dass die Menge des ausgeschiedenen Eiweisses abhängig ist von der Gesamteiweisszersetzung in erster Linie, in geringerem Grade von der Beteiligung des Körpereiweisses an der Zersetzung. Nach Allard und Weber ist dagegen weder die Menge, noch die Art des dargereichten Eiweisses von Einfluss auf die Intensität der Ausscheidung. Es ist gelegentlich beobachtet worden, dass bei Unterernährung infolge interkurrenter Pneumonie die Ausscheidung des Bence-Jonesschen Eiweisskörpers zunahm; das würde dafür sprechen, dass ein Zusammenhang mit einem stärkeren Zerfall von Körpereiweiss besteht. Untersuchungen von Abderhalden und Rostoski[3]) mit Hilfe der biologischen Methode ergaben, dass der Bence-Jonessche Eiweisskörper nicht als etwas für den Menschenkörper Fremdes angesehen werden darf. Es handelt sich also keinesfalls um direkt wieder ausgeschiedenes Nahrungseiweiss, sondern um Eiweiss, das zu Körpereiweiss geworden ist.

Nach Decastello[4]) scheint eine Schädigung der Nieren Vorbedingung für die Ausscheidung des Bence-Jonesschen Eiweisskörpers zu sein.

---

[1]) O. Kahler, Prager med. Wochenschr. 1889. 33. — A. Raschke, Ebenda 1894. 649. — G. Jochmann und O. Schumm. Münchener med. Wochenschr. 1901. 1340. — M. Gascard. Compt. rend. de la Soc. biol. **64**. 13. 1908. — S. Askanazy, Deutsches Archiv f. klin. Med. 68. 34. — A. v. Decastello, Verhandl. d. Kongr. f. inn. Med. 25. 620. 1908; Zeitschr. f. klin. Med. **67**. 319. 1909.

[2]) F. Parkes-Weber, R. Hutchinson und J. J. R. Macleod. Med.chir. Transact. **86**. 395. 10. März 1903; s. auch Deutsche med. Wochenschr. 1903. Nl. 18, Vereinsbeilage. — Hier ist die Literatur bis zum Jahre 1903 zusammengestellt. — A. Ellinger l. c.

[3]) Magnus-Levy, Zeitschr. f. physiol. Ch. **30**. 200. 1900. — F. Voit und H. Salvendi. Münchener med. Wochenschr. 1904. Nr. 24. — E. Allard und S. Weber, Deutsche med. Wochenschr. 1906. 1251. — E. Abderhalden und O. Rostoski, Zeitschr. f. physiol. Ch. **46**. 125. 1905.

[4]) Decastello l. c.

Digitized by Google

B. Eigenschaften. Trotz der zahlreichen chemischen eingehenden Untersuchungen lässt sich bisher keine genügende Charakteristik des Bence-Jonesschen Eiweisskörpers geben. Es ist von verschiedenen Seiten darauf hingewiesen worden, dass der Bence-Jonessche Eiweisskörper kein einheitlicher Stoff ist (Hugounenq, Ville et Derrien, Voit und Salvendi); es spricht dafür das wechselnde Verhalten gegenüber Ammoniumsulfat und anderen Neutralsalzen, sowie auch sonstige Unterschiede. Das gemeinsame Charakteristikum ist die Hitzelöslichkeit. Man hat daher von Globulin und Albumin ja auch Histon mit Bence-Jonesscher Reaktion gesprochen. In dem Falle von Matthes[1]) scheint neben dem eigentlichen Eiweisskörper ein Nucleoproteid vorhanden gewesen zu sein.

1. Die hervorstechendste Eigenschaft des Bence-Jonesschen Eiweisskörpers ist das Verhalten beim Erwärmen. Abderhalden und Rostoski[2]) schildern dasselbe folgendermassen: Bei einem neutral reagierenden Harn erfolgte bei 55—60° eine leichte, schleierartige Trübung, und bei 60° trat ein dicker flockiger Niederschlag ein. Säuerte man denselben Harn bis zur leicht sauren Reaktion an, so erfolgte die erste Trübung bei 48—49°, die Ausfällung bei 52—53°. Bei noch stärkerem Säuregehalt erfolgte die erste Ausfällung bei 42° und die dicke Flockenbildung später. Bei Siedetemperatur löste sich der Niederschlag wieder auf, um beim Abkühlen von neuem wieder zu erstehen, und zwar war die Aufhellung beim Sieden an einigen Tagen vollkommen, an anderen blieb eine Trübung bestehen. Ebenso gelang es, bei Temperaturen zwischen 40 und 55° bei saurer Reaktion, bei Temperaturen von 60—65° bei neutraler oder ganz schwach saurer Reaktion an einigen Tagen das Eiweiss vollkommen auszufällen, an anderen Tagen blieb noch Eiweiss im Filtrat nachweisbar.

Die Ausscheidung gelingt besonders gut, wenn man den Harn vorher mit der gleichen Menge destillierten Wassers verdünnt oder mehrere Male auf die entsprechende Temperatur erwärmt.

Auch der Salzgehalt ist nicht ohne Einfluss auf diese eigentümliche Gerinnungserscheinung. Je nach der Acidität und dem Salzgehalt des Harnes wechseln daher die Temperaturgrenzen, bei welchen Fällung eintritt. Auch andere Bestandteile des Harns, wie z. B. der Harnstoffgehalt sind von Einfluss auf das Verhalten dieses Eiweisskörpers.

Der durch Dialyse salzarm gemachte Harn gerinnt nicht beim Erwärmen. Es ist daher bei sehr salzarmen Harnen ein Zusatz von NaCl zu empfehlen (Spaeth)[3]).

---

[1]) Hugounenq, Lyon médical **96**. 87. 1901. — J. Ville und E. Derrien, Compt. rend. de la Soc. biol. **62**. 679. 1907. — Voit und Salvendi l. c. — M. Matthes, Verh. d. Congr. f. inn. Medic. XIV. 476. 1896.

[2]) Abderhalden und Rostoski l. c.

[3]) Spaeth, Untersuchung des Harns III. Auf. S. **433**. **1908**.

Digitized by Google

Der aus dem Harn isolierte Eiweisskörper zeigt beim Erwärmen wesentlich andere Eigenschaften, s. später sub 12.

2. Durch Alkohol erfolgt Fällung. Wurde der Niederschlag sofort abzentrifugiert, so gelang seine Auflösung wieder. Bei längerem Verweilen unter Alkohol wird er jedoch unlöslich.

3. Durch Kochsalz oder Magnesiumsulfat entsteht bei Sättigung im nativen sauren Harn eine schwache Trübung, im neutralisierten Harn blieb auch diese aus. Durch Ammoniumsulfat wird der Eiweisskörper sowohl aus dem nativ sauren als auch aus dem neutralisierten Harn vollkommen ausgefällt. Die Grenzen lagen im neutralisierten Harn zwischen 42 und 58% Sättigung (Abderhalden und Rostoski). An einigen Tagen wurde noch ein später bei 72% Sättigung ausfallender Körper konstatiert (Abderhalden und Rostoski).

4. Beim Dialysieren passiert der Eiweisskörper die Membran nicht. Im salzfreien Wasser bleibt er in Lösung.

5. Der Eiweisskörper enthält gelegentlich geringe Mengen P. Meist wurde er P-frei gefunden (s. bei kryst. Körper).

6. Durch Zusatz des gleichen Volums gesättigter Kochsalzlösung und Ansäuern mit Essigsäure tritt vollkommene Ausfällung ein. Der Niederschlag löst sich beim Erhitzen nicht. Erst bei reichlichem Zusatz von Essigsäure verschwindet der Niederschlag beim Erhitzen.

7. Verhalten gegen Säuren. Durch Verdünnen des Harns und Zusatz von Essigsäure lässt sich mitunter eine mässige Trübung erzielen. Salpetersäure bewirkt in der Kälte einen dichten Niederschlag, der sich im Überschuss nicht löst, beim Erhitzen ganz oder teilweise in Lösung geht. — Durch Salzsäure und Schwefelsäure entsteht ebenfalls in der Kälte ein Niederschlag, der sich beim Erhitzen vollkommen löst. Der Schwefelsäureniederschlag kehrte beim Erkalten überhaupt nicht, der Salzsäureniederschlag sehr langsam und unvollkommen wieder. Der Trichloressigsäureniederschlag löste sich beim Erhitzen nur zum Teil, das meiste war koaguliert; genau so verhielt sich die Pikrinsäurefällung.

Die Fällung mit Salzsäure in der Kälte lässt sich namentlich, wenn der Eiweisskörper in kleinen Mengen vorhanden ist, mit Vorteil als Schichtprobe ausführen (Bradshave)[1].

8. Mit Essigsäure und Ferrocyankalium entsteht ein Niederschlag, der sich beim Erwärmen, wenn genug Essigsäure hinzugegeben wird, wieder auflöst.

Die Biuretreaktion des Eiweisskörpers (am isolierten Eiweiss angestellt) ist rotviolett.

[1]) J. R. Bradshave, Münchener med. Wochenschr. 54. 336. 1907.

Digitized by Google

9. Während so das Verhalten dieses Eiweisskörpers vielfach an das der Albumosen erinnert, beweist das Verhalten bei Hydrolyse, dass es sich um einen nativen Eiweisskörper handelt. Alkalien und Säuren verwandeln den Körper rasch in Albuminat bezw. Acidalbumin. Er ist sehr wenig resistent gegen Pepsinsalzsäure und liefert, wie Grutterink und Graaff[1]) zeigten, alle bisher bekannten primären und sekundären Verdauungsprodukte der Eiweisskörper, auch Heteroalbumose. Magnus-Levy hatte die Heteroalbumose vermisst.

10. Der Körper ist gelegentlich von Magnus-Levy[2]) krystallinisch erhalten worden. Versuche nach der Hofmeisterschen Methode, durch freiwilliges Verdunsten der ammoniumsulfathaltigen Lösung Krystalle zu erhalten, schlugen ihm fehl. Als er eine Lösung, die etwas weniger wie 40 Vol. gesättigter Ammoniumsulfatlösung enthielt, in verschlossener Flasche bei Zimmertemperatur fortstellte, zeigte sich nach 4 Monaten, dass millimetergrosse Krystalle an den Wandungen des Gefässes sich abgeschieden hatten. Diese Krystalle liessen sich umkrystallisieren. Es gelang Magnus-Levy aber nicht, trotz vielfacher Versuche ein zweites Mal diese Krystalle zu erhalten.

Grutterink und Graaff[3]) konnten nach einem abweichenden Verfahren in einem anderen Falle regelmässig Krystalle erhalten.

Zunächst wird der Eiweisskörper durch Zusatz des doppelten Volumen konzentrierter Ammoniumsulfatlösung ausgefällt. Dieser Niederschlag wurde mit einer zur Lösung nicht genügenden Menge Wasser in eine gesättigte Lösung gebracht. Diese Lösung wird mit dem gleichen Volum destillierten Wassers verdünnt. Bestimmungen des Ammoniumsulfatgehaltes dieser verdünnten Lösung ergaben, dass derselbe (aus dem dem Niederschlage anhaftenden Ammoniumsulfat stammend!) ziemlich konstant einem Gehalt von 10,1—10,45 Volumprozent einer gesättigten Lösung entsprach. Zu dieser verdünnten Lösung werden auf je 100 ccm 5,6 ccm n/4-Schwefelsäure hinzugegeben. Innerhalb 25 Stunden bilden sich schöne weisse Krystalle (Globulithen, Prismen, Nadeln). Die Krystalle liessen sich reinigen durch wiederholtes Dekantieren mit Wasser; sie waren fast farblos.

Die Krystallisation gelingt auch, wenn man die konzentrierte Lösung des Ammoniumsulfatniederschlages zuerst durch 14tägige Dialyse vom Ammoniumsulfat befreit und dann 10 Volumprozent gesättigte Ammoniumsulfatlösung wieder hinzugibt.

Grutterink und Graaff sind der Meinung, dass die so dargestellten Eiweisskrystalle ein reines einheitliches Eiweiss darstellen, soweit bei Eiweiss von rein und einheitlich überhaupt die Rede sein kann. Die leichte Aussalzbarkeit dieses Eiweisskörpers ermöglicht sicher eine gute Abtrennung von anderen Eiweissstoffen. Ob aber in dem untersuchten Falle ausschliesslich das krystallinisch gewonnene Eiweiss bei der Bence-Jonesschen Reaktion beteiligt war, bleibt unentschieden. Ebenso fehlen einschlägige Untersuchungen bei anderen Fällen dieser Anomalie.

11. Die Bestimmung der Spaltungsprodukte nach der E. Fischerschen Estermethode an dem durch Aussalzen mit Ammoniumsulfat gewonnenen amorphen

[1]) Alide Grutterink und Cornelia J. de Graaff, Zeitschr. f. physiol. Ch. **46**. 473. 1905.

[2]) A. Magnus-Levy l. c.

[3]) A. Grutterink und C. J. de Graaff, Zeitschr. f. physiol. Ch. **34**. 393. 1902.

Digitized by Google

Eiweissstoff ergab: auf 100 g trockenes Eiweiss Glycocoll 1,7 g, Alanin 4,5 g, Leucin 10,6 g, Prolin 1,9 g, Phenylalanin 1,5 g, Glutaminsäure 6,0 g, Asparaginsäure 4,5 g, Tyrosin 1,7 g (Abderhalden und Rostoski).

Der Bence-Jonessche Eiweisskörper zeigt qualitativ dieselbe Zusammensetzung, wie die übrigen gewöhnlichen Eiweisskörper. Die Werte kommen denen des Serumalbumin und des Serumglobulin nahe. Der verhältnismässig hohe Gehalt an Tyrosin spricht gegen die Annahme, dass ein tiefer abgebautes Eiweiss vorliegt.

Reach[1]) kommt zu dem Ergebnis, dass der Bence-Jonessche Eiweisskörper mit keinem anderen Eiweisskörper übereinstimmt.

12. Die wesentlichen Eigenschaften des von Grutterink und de Graaff gewonnenen Krystallpräparates sind folgende:

a) Die Krystalle färben sich mit organischen Färbstoffen (Säurefuchsin, Safranin, Methylenblau). Durch Zufliessen von Permanganatlösungen färben sie sich braun unter Erhaltung der Form. Sie sind ohne Formveränderung mit Alkohol fixierbar.

b) Bei den prismatischen Krystallen handelt es sich anscheinend um sechsseitige Prismen mit aufgesetzten Pyramiden. Die Krystalle sind doppelbrechend, optisch positiv, gehören wahrscheinlich dem hexagonalen System an.

c) Die mit Alkohol und Äther gewaschenen, an der Luft getrockneten Krystalle verlieren beim Trocknen bei 100° 7,5% an Gewicht. Bei weiterem Trocknen bei 110° ändert sich das Gewicht nicht mehr.

d) Die Krystalle haben die Zusammensetzung: 52,42% C, 6,83% H, 15,66% N, 1,46% S, 0,1% Asche, 0,561% leicht abspaltbare S, Fe-Spur, kein P. Die Krystalle lösen sich sehr schwer in kaltem Wasser; die Lösungen reagieren gegen Lackmus schwach sauer, ohne dass Schwefelsäure dabei nachweisbar ist. In Harnstofflösung (2%) sind sie etwas besser löslich. In kochendem Wasser lösen sie sich völlig und bleiben beim Abkühlen in Lösung. Die Erhitzung hat aber das Eiweiss verändert, denn diese Lösung ist im Gegensatz zu der salzfrei dialysierten Lösung des Ammoniumsulfatniederschlages des Harns durch geringe Mengen anorganischer Salze (Ammoniumsulfat, Chlorammonium, Kochsalz) fällbar.

e) Die kalt gesättigte wässerige Lösung war fällbar durch Alkohol, durch Salpetersäure in der Kälte (Lösung beim Erwärmen), durch konzentrierte NaCl-Lösung und Essigsäure, durch Sättigen mit NaCl, durch verdünnte Kupfersulfatlösung, durch Essigsäure-Ferrocyankalium (Lösung beim Erwärmen), durch Pikrinsäure, durch Metaphosphorsäure, Trichloressigsäure (letztere beiden lösen sich beim Erwärmen). Die Probe von Adamkiewicz war deutlich violett, die Probe von Molisch positiv, die Biuretprobe rotviolett.

f) Dass bei Einwirkung von Pepsinsalzsäure alle bisher bekannten Verdauungsprodukte der nativen Eiweisskörper entstehen, ist schon erwähnt.

C. Nachweis und Darstellung. Zum Nachweis dient vor allem das eigentümliche Verhalten des im Harn gelösten Eiweisses beim Erwärmen (s. vorher). Ferner kann eine Schichtprobe mit starker Salzsäure, namentlich wenn der Eiweisskörper nur in geringer Menge vorhanden ist, zur Entdeckung dieses Eiweissstoffes dienen. Im übrigen sind die oben erwähnten Eigenschaften zur Charakterisierung heranzuziehen. Die Darstellung des Eiweissstoffes kann entweder darauf ausgehen, nach dem von Grutterink und Graaff angegebenen Verfahren den Eiweisskörper in Krystallform abzuscheiden, oder aber darauf, den durch Aussalzen gewonnenen amorphen Niederschlag weiterhin zu

[1]) F. Reach, Deutsches Archiv f. klin. Med. 82. 390. 1905.

Digitized by Google

reinigen. Zum Aussalzen genügt der Zusatz des doppelten Volumens konzentrierter Ammoniumsulfatlösung zu dem Harn. Man kann natürlich auch Ammoniumsulfat in Substanz in dem Harn auflösen und sich durch Proben von der Vollständigkeit der Ausfällung überzeugen. Die Reinigung kann geschehen durch wiederholtes Auflösen und Wiederfällen dieses Ammoniumsulfatniederschlages.

Neumeister[1]) gibt folgende Vorschrift. Man salzt den Eiweisskörper mit Ammoniumsulfat aus und trägt den abgepressten, noch feuchten Niederschlag in 3%ige siedende Kochsalzlösung ein unter tropfenweiser Zugabe von Salzsäure, bis Lösung erfolgt ist. Man filtriert mit Hilfe eines Heisswassertrichters; aus dem völlig klaren Filtrate scheidet sich dann beim Abkühlen ein Niederschlag aus, der durch Dekantieren und Zentrifugieren von der Mutterlauge getrennt wird und dann wiederholt noch mit Wasser gewaschen und zentrifugiert wird, bis der Niederschlag von Salzen frei ist, was daran zu erkennen ist, dass er sich beim Zentrifugieren nicht mehr völlig absetzt, sondern sich durch milchige Trübung zu lösen beginnt. Dann bringt man den Niederschlag in einen Pergamentschlauch oder in einen Dialysator und dialysiert mehrere Wochen, bis in der Aussenflüssigkeit (gesättigtes Chloroformwasser, das häufig gewechselt wird) kein Kochsalz mehr nachweisbar ist. Der neutral reagierende Inhalt des Schlauches oder des Dialysators wird in einem Becherglase mit absolutem Alkohol versetzt, der abgeschiedene Eiweisskörper abfiltriert, mit absolutem Alkohol und Äther gewaschen und im Vakuum getrocknet.

Dieses Darstellungsverfahren bedeutet sicher eine gründliche Reinigung, aber auch eine weitgehende Veränderung des im Harn zunächst vorhandenen Eiweisskörpers.

Anhang.

Der krystallinische Eiweisskörper des Harns.

Meist zu den Fällen von „Bence-Jones" gerechnet wird ein von Byrom-Bramwell und Noël-Paton[2]) beschriebener Fall. Es ist aber heute nicht mehr feststellbar, ob der Fall hierher gehört. Ob Knochenmarksveränderungen vorlagen, ist nicht bekannt. Die Eigenschaften sind nicht ganz typisch, namentlich was das Verhalten beim Erwärmen anbelangt.

---

[1]) R. Neumeister, Lehrbuch d. physiol. Chemie. II. Aufl. S. 805. 1897.

[2]) Byrom-Bramwell und Noël-Paton, Reports from the Laboratory of the R. Coll of Physicans, Edinburgh 4. 47. 1892. — Noel-Paton, Proc. Roy. Soc. Edinburgh 1892. 102. — Ausführlich mitgeteilt bei Huppert, Zeitschr. f. physiol. Ch. 22. 500. 1897.

Digitized by Google

Fall von Byrom-Bramwell und Noël-Paton. Dieser Fall ist darum von Bedeutung, weil der in ihm enthaltene Eiweisskörper krystallisiert erhalten wurde. Tägliche Harnmengen von ungefähr 1,5 Liter, hohe Dichte (1,030), Reaktion sauer, Eiweissgehalt gewöhnlich 2—3% (1,5—7,5), Cylinder oder Epithelien nicht vorhanden. Beim Erwärmen des Harns trat erst milchige Trübung ein, dann folgte plötzlich die Abscheidung einer faserigen, fibrinähnlichen, klebenden, dehnbaren und elastischen Masse; der Harn erstarrte dabei fast in ganzer Masse. Die Koagulation begann bei 59—60° und war bei 62° vollendet.

Beim Aufbewahren schied der Harn in der Regel den Eiweisskörper krystallinisch ab, manchmal schon nach 1—2 Tagen, manchmal erst nach Wochen und Monaten. Das entstandene krystallinische Sediment machte bei der ersten Wahrnehmung desselben 1/5 des Harnvolumens aus. Nach Noël-Paton konnte der Eiweisskörper auch ausserhalb des Harns zur Krystallisation gebracht werden, wenn der frische Harn mit dem gleichen Volumen gesättigter Ammonsulfatlösung vermischt, der entstandene Niederschlag mit halbgesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen und in einem Pergamentschlauch nach Zusatz von etwas Thymol erst drei Tage gegen fliessendes Wasser, dann noch 48 Stunden gegen oft gewechseltes, destilliertes Wasser dialysiert wurde.

Die spontan entstandenen und die in angegebener Weise erhaltenen Krystalle waren gleich. Sie bildeten farblose lange schmale Tafeln mit zweiflächiger, stumpfwinkliger Zuspitzung. Aus ihren Lösungen (Harn) schieden sie sich in kugeligen Aggregaten höchstens von Stecknadelkopfgrösse aus. Sie waren unlöslich in kaltem und in heissem Wasser sowie in Alkohol, aber löslich in verdünnten Neutralsalzlösungen. In gesättigter Chlornatriumlösung lösten sie sich nicht, wohl aber in verdünnterer; nicht in 100%iger Magnesiumsulfatlösung, aber in 93%iger; teilweise in 16%iger Ammonsulfatlösung, vollständig aber in verdünnterer. Sie lösten sich ferner in Säuren (Salzsäure, Schwefelsäure, Essigsäure) und in Alkalihydraten (Kalilauge, Ammoniak); beim Verdunsten der ammoniakalischen Lösung traten die Krystalle manchmal wieder auf.

Durch diese Löslichkeitsverhältnisse erscheint die Fähigkeit der Substanz bedingt, sich aus dem Harn krystallinisch abzuscheiden. Die Krystalle traten nur dann auf, wenn der Harn seine saure Reaktion beibehielt; wurde er beim Aufbewahren ammoniakalisch, was übrigens nur auffallend selten geschah, so blieben die Krystalle aus. Dass sie sich überhaupt bildeten, wird darauf bezogen, dass neben dem Eiweisskörper relativ wenig Salze im Harn zugegen waren. So wurde einmal der Salzgehalt zu nur 1,475% bestimmt.

Die Krystalle sind von Murray analysiert worden. 0,965 g Substanz hinterliess beim Verbrennen eine unwägbare Menge Asche. Bei 110° verloren die Krystalle 6,01 und 6,6% an Gewicht. Bei der Verbrennung gaben sie im Mittel zweier gut stimmender Analysen 51,89% C, 6,88 H, 16,06 N, 1,24 S und 23,93% O. Phosphor enthielten sie nicht.

Die Lösung der Krystalle in Neutralsalzlösung koagulierte je nach der Art des Salzes bei 56—59°. Sie gaben die Xanthoproteinreaktion und die Liebermannsche Eiweissreaktion; beim Erwärmen mit konzentrierter Schwefelsäure färbten sie sich rot. Beim Erhitzen entwickelten sie den Geruch nach verbrannten Federn.

IV. Die Albumosen des Harns.

Gerade auf diesem Gebiete ist die Nomenklatur eine ausserordentlich wechselnde gewesen, so dass es notwendig ist, vorab einige Definitionen zu geben, die dem jetzt bei den physiologischen Chemikern allgemein üblichen entsprechen. Man geht am besten aus von den bei der Magenverdauung durch Pepsinsalzsäure entstehenden Produkten. Als

Digitized by Google

erstes Umwandlungsprodukt wird das Acidalbumin betrachtet. Es unterscheidet sich von dem unveränderten Eiweiss im wesentlichen dadurch, dass es 1. beim Erhitzen in schwach saurer Lösung nicht koaguliert, 2. dass es in verdünnten Neutralsalzlösungen unlöslich ist, dass also beim Neutralisieren der sauren oder auch der alkalischen Lösung ein Neutralisationsniederschlag entsteht. 3. Ist das Acidalbumin sehr leicht durch Neutralsalze aussalzbar. Es steht dem unveränderten Eiweiss insofern noch nahe, als es, wenn es gefällt ist, leicht koagulierbar ist.

Ein Vorkommen von Acidalbumin im unzersetzten Harn ist bisher nicht beobachtet worden.

Bei den eigentlichen Verdauungsprodukten unterscheidet man Albumosen und Peptone. Als Peptone im modernen Sinne des Wortes bezeichnet man die eiweissartigen Verdauungsprodukte, welche mit Ammoniumsulfat nicht aussalzbar sind. Diese Bezeichnung stammt von Kühne und seiner Schule her. Brücke bezeichnete mit dem Namen Pepton ein Gemenge, das sich im wesentlichen mit dem heutigen Begriff „sekundäre Albumosen" deckt. Das echte Pepton im Sinne Kühnes, das hier von jetzt ab mit dem Namen Pepton schlechtweg bezeichnet werden soll, ist im Harn mit Sicherheit wohl überhaupt nicht nachgewiesen.

Untersuchungen von Devoto, von Schütz (in Hupperts Laboratorium), Schutter, Senz, Hirschfeld, Jankowski, Stadelmann vermissten dasselbe im Harn Kranker. Nach Thomson fehlt es im Harn Schwangerer, und nach Sior [1]) im Harn gesunder und kranker Kinder.

Nur Ito [2]) hat neuerdings angegeben, dass sich bei Verarbeitung grösserer Harnmengen (300 ccm) und nach einem besonderen, von ihm angewandten Verfahren verhältnismässig häufig echtes Pepton neben Albumosen nachweisen lasse. Er fand in acht Fällen von Pneumonia crouposa 7 mal Albumosen (im Alkoholniederschlag), 6 mal Pepton, in zwei Fällen von Pleuritis supurativa fehlten Albumosen und Pepton, in fünf Fällen von Phthisis fanden sich 3 mal Albumosen und 1 mal Pepton. Bei 13 Wöchnerinnen fand er 5 mal Albumosen, 1 mal Pepton. Bei Schwangeren, sowie bei Ulcus ventriculi fehlte Pepton. Eine Bestätigung dieser Angaben ist nicht erfolgt.

Dagegen finden sich häufiger im Harn Albumosen. Albumosen sind zu definieren als nicht koagulierbare, in neutralen verdünnten Salzlösungen lösliche Eiweissstoffe, welche mit Ammoniumsulfat aussalzbar sind. Man unterscheidet zunächst primäre Albu-

[1]) L. Devoto, Zeitschr. f. physiol. Ch. **15**. 471. 1891. — J. A. Schutter, Jahresber. f. Tierch. 1886. 228; 1888. 117. — K. Senz, Über Albumosen und Peptonurie. Diss. Berlin 1891; Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1892. 825. — H. Hirschfeldt, Diss. Dorpat 1892. — P. Jankowski, Diss. Dorpat 1893. — E. Stadelmann, Untersuchungen über die Peptonurie. Wiesbaden 1894. — H. Thomson, Deutsche med. Wochenschr. 44. 1889. — L. Sior, Jahresber. f. Kinderheilk. **37**. 352.

[2]) Midori Ito, Deutsches Archiv f. klin. Med. 71. 29. 1901. — S. auch Rostoski, Sitzungsber. d. Würzburger med.-physik. Gesellsch. 1901.

Digitized by Google

mosen und sekundäre Albumosen (Deuteroalbumosen). Die primären Albumosen sind bei neutraler Reaktion aussalzbar durch halbe Sättigung mit Ammoniumsulfat, die man am einfachsten erreicht, indem man zu der betreffenden Albumosenlösung das gleiche Volum einer kalten gesättigten, neutral reagierenden Lösung von Ammoniumsulfat hinzugibt. Die primären Albumosen entsprechen also der Globulininfraktion des Bluteiweisses. Die primären Albumosen werden wiederum getrennt in Heteroalbumose und Protalbumose. Unterwirft man eine Lösung der primären Albumosen der Dialyse, so fällt die Heteroalbumose aus. Lässt man diesen Heteroalbumosenniederschlag unter Wasser stehen, so koaguliert derselbe schon in der Kälte langsam, d. h. er verliert die Fähigkeit, sich in verdünnter Salzlösung wieder aufzulösen. Intensiver wirkt auf den Niederschlag siedendes Wasser, sowie Alkohol koagulierend. Diese koagulierte Heteroalbumose hat man auch als Dysalbumose bezeichnet. Die sekundären Albumosen (Deuteroalbumosen) entsprechen in ihrem Verhalten gegen Ammoniumsulfat etwa den Albuminen; sie sind in halbkonzentrierter neutraler Ammoniumsulfatlösung löslich, dagegen fällbar beim Sättigen der Lösung mit Ammoniumsulfat; sie sind nicht fällbar bei Dialyse ihrer salzhaltigen Lösungen. Es genügt dabei aber nicht das Sättigen bei neutraler Reaktion, sondern man muss, um unbedingt alles mit Ammoniumsulfat Aussalzbare zu entfernen, nachdem man bei neutraler Reaktion ausgesalzen hat, die Flüssigkeit ansäuern und nochmals mit Ammoniumsulfat sättigen und dann wiederum nach Entfernung des eventuell auftretenden Niederschlages nochmals bei alkalischer Reaktion fällen. Auch haben die mit Ammoniumsulfat gesättigten Lösungen die Neigung, nachdem sie durch Filtration geklärt sind, nachträglich sich wieder zu trüben und leichte Niederschläge abzusetzen. Es geht daraus hervor, dass es nicht so einfach ist, eine ganz sichere Abtrennung der sekundären Albumosen von dem Pepton herbeizuführen. Die sekundären Albumosen hat man in verschiedene Fraktionen wieder zerlegt, wovon später noch die Rede sein soll. Für die praktischen Zwecke der Harnuntersuchung spielen diese Unterabteilungen der sekundären Albumosen keine Rolle, zumal auch die primären Albumosen, sowie das Pepton, keineswegs als rein und einheitlich gelten können.

Das a- und b-Pepton Meissners, sowie sein Metapepton waren Albumosen. Das Peptonum sicc. von Witte (Rostock), sowie andere käufliche, sog. „Peptone" bestehen wesentlich aus Albumosen.

Es sollen zunächst die Verdauungsalbumosen und das Pepton in ihren wesentlichen Eigenschaften charakterisiert werden.

1. Die Verdauungsalbumosen.

Unsere jetzigen Kenntnisse von der Beschaffenheit der Albumosen rühren von Kühne und seinen Schülern, sowie von der Hofmeisterschen Schule [1]) her; bei einer näheren Charakterisierung der Harnalbumosen hat man auf die Eigenschaften der Verdauungsalbumosen Bezug zu nehmen.

Die unten angeführten Eigenschaften sind hauptsächlich die der durch Pepsinverdauung gewonnenen Fibrinalbumosen. Albumosen anderer Darstellungsweisen oder aus anderen Eiweisskörpern bieten in einzelnen Punkten Abweichungen dar.

Eigenschaften. 1. Die sekundären Albumosen und die Protalbumosen lösen sich leicht in Wasser, die Heteroalbumose dagegen nur sehr wenig, bei 40^0 besser als in der Kälte (Neumeister)[2]). Alle Albumosen lösen sich in mässig konzentrierten Neutralsalzlösungen, in verdünnten Säuren, in Alkalihydraten und in Alkalicarbonaten.

Aus der Lösung in Säuren oder in Alkalien wird die Heteroalbumose durch Neutralisieren wegen der lösenden Wirkung des beim Neutralisieren gebildeten Salzes nicht vollständig gefällt. Durch Kohlensäure wird eine alkalische Albumoselösung nach Adamkiewicz nur getrübt, nicht gefällt. Der durch Verdünnung einer Heteroalbumoselösung in Salzwasser auftretende Niederschlag löst sich nicht bloss in Neutralsalz, sondern auch in den genannten Reagentien.

Unter Alkohol, beim Aufbewahren in trockenem Zustande, bei der Fällung durch Sättigen mit Salz, beim Kochen verliert die Heteroalbumose teilweise oder ganz die Fähigkeit, sich in Kochsalz zu lösen. Die koagulierte Albumose (Dysalbumose) löst sich langsam, aber vollständig in Salzsäure von 0,1—0,2% und gibt beim Neutralisieren Heteroalbumose und Dysalbumose. Sie löst sich in der Wärme in Sodalösung von 1% und wird dabei wieder in Heteroalbumose übergeführt (in Salzwasser löslich, durch Dialyse abscheidbar). In selbst salzfreier Deuteroalbumoselösung löst sich nach Neumeister [3]) Dysalbumose und wird aus dieser Lösung bei Abwesenheit von Protalbumose durch Steinsalz nicht gefällt; Salpetersäure erzeugt in einer solchen Lösung keinen Niederschlag, wohl aber Kupfersulfat einen im Überschuss unlöslichen.

2. a) Alle Albumosen werden aus schwach alkalischer, neutraler oder schwach saurer Lösung durch Sättigen derselben mit Ammonsulfat oder auch Zinksulfat gefällt (Wenz, Pick)[4]).

Nach Kühne [5]) lassen sich die schwer fällbaren Anteile der Albumose nur in der Weise vollständig abscheiden, dass man die Lösung nacheinander bei alkalischer und bei saurer Reaktion mit Ammonsulfat sättigt.

[1]) Kühne und Chittenden, Zeitschr. f. Biol. **20**. 11; **22**. 409; **25**. 358. — Chittenden, Studies from the laborat. of physiol. chem. Sheffield scient. school of Yale University **2**. 126. u. 156. 1887. — Kühne, Zeitschr. f. Biol. **29**. 1. 308; **30**. 221. — R. Neumeister, Ebenda **23**. 381. 402; **24**. 267; **26**. 57. 324; Lehrbuch d. physiol. Ch. **1**. 184. 1893. — Eine selbständige Untersuchung der Albumose von Herth, Monatshefte f. Ch. **5**. 266. — E. P. Pick, Zeitschr. f. physiol. Ch. **24**. 246. 1897. — E. Zunz, Ebenda 27. 219. 1899. — F. Hofmeister, Ergebn. d. Physiol. (Spiro-Asher) I. 1. 759. 1902.

[2]) Neumeister, Zeitschr. f. Biol. **24**. 269.

[3]) Neumeister, Zeitschr. f. Biol. **23**. 393.

[4]) J. Wenz, Zeitschr. f. Biol. **22**. 10. — E. P. Pick l. c.

[5]) Kühne, Zeitschr. f. Biol. **29**. 1.

Digitized by Google

b) Durch Sättigen ihrer Lösungen mit Kochsalz wird die Heteroalbumose fast vollständig, die Protalbumose nur teilweise (etwa zur Hälfte) niedergeschlagen, die Deuteroalbumose dagegen gar nicht. Der in Lösung bleibende Rest der Heteroalbumose kann durch Dialyse, der Rest der Protalbumose, sowie ein Teil der Deuteroalbumose, aus der mit Salz gesättigten Lösung durch Essigsäure abgeschieden werden. Die Dysalbumose ist in Salzwasser unlöslich.

Eine Heteroalbumoselösung in Salzwasser trübt sich beim Verdünnen mit Wasser, eine gesättigte sogleich, eine nicht gesättigte erst nach stärkerem Verdünnen.

3. Alkohol fällt alle Albumosen vollständig aus ihren neutralen Lösungen, wobei nur die Heteroalbumose teilweise koaguliert (in Dysalbumose übergeführt) wird. Die beiden anderen Albumosen lösen sich nach dem Fällen wieder leicht und vollständig in Wasser. Aus saurer oder alkalischer Lösung fällt Alkohol die Albumosen nicht; aus einer solchen Lösung in 60%igem Alkohol wird die Albumose nach Hofmeister beim Neutralisieren nahezu vollständig in Flocken abgeschieden.

4. Die Lösungen drehen die Ebene des polarisierten Lichtes nach links.

Nach Salkowski beträgt $[\alpha]_D = -78$ bis -80^0. Kühne u. Chittenden[1]) bestimmten die spezifische Drehung der Heteroalbumose zu $-60{,}7$ bis $-68{,}7^0$, die der anderen Albumosen zu $-70{,}5$ bis $-81{,}2^0$ mit ebenso grossen Schwankungen für ein und dieselbe Albumose.

5. Die Heteroalbumose dialysiert nach Kühne[2]) in neutraler oder schwach saurer Lösung nur ganz unwesentlich, in alkalischer Lösung merklich, aber auch nur langsam. Die Protalbumose und die Deuteroalbumosen dialysieren in schwach saurer Lösung besser als in alkalischer; von beiden dialysiert aber die Protalbumose schneller als die Deuteroalbumose.

Das Verhalten der verschiedenen Albumosen beim Aussalzen ist namentlich von E. P. Pick zur Charakterisierung und Fraktionierung benutzt worden. Die wesentlichen Ergebnisse der Pickschen Untersuchungen hat Hofmeister[3]) in beistehender Tabelle zusammengestellt.

6. a) Eine mit Heteroalbumose gesättigte, neutrale Lösung in schwacher (1%iger) Kochsalzlösung gibt beim Erwärmen eine starke Trübung, welche ihr Maximum bei ungefähr 60^0 erreicht;

[1]) Salkowski, Virchows Archiv 81. 560. — Kühne und Chittenden a. a. O. 20. 51.
[2]) Kühne, Zeitschr. f. Biol. 29. 20.
[3]) E. P. Pick, l. c. — F. Hofmeister, Ergebnisse der Physiol. I. 1. 759. 1902.

Digitized by Google

Fraktionen	Fällungsgrenzen für Ammoniumsulfat in Sättigungsprozenten	Albumosen	Löslichkeit in verdünntem Alkohol	Zusammensetzung Prozent C	H	N	S	O	Biuretreaktion	Millons Reaktion	Xanthoproteinreaktion	Indol-(Skatol)-entwickelung bei Kalischmelze	Kohlehydratreaktionen	Schwefelbleireaktion
Hetero-Prot-albumosen-fraktion	24—42	Hetero-albumose	unlösl. in 32%	55,12	6,61	17,98	1,22	19,07	pos.	s. schwach	pos.	s. schwach	fehlt	pos.
		Prot-albumose	lösl. in 80%	55,64	6,80	17,66	1,21	18,69	"	stark	"	s. stark	"	"
Deutero-albumosen A.	54—62	Thioalbumose	unlösl. in 60—70%	48,96	6,90	16,02	2,97	25,15	"	pos.	"	pos.	"	s.stark
		S-arme-A-Albumose	lösl. in 70%	53,11	7,16	17,86	0,8	21,07	"	"	"	"	"	pos.
Deutero-albumosen B.	70—95	B. I. Albumose	unl. in 35%	—	—	16,94	—	—	"	"	"	—	fehlt	"
		Glukoalbumose (B. II.)	unl. in 60—70%	48,72	7,03	13,76	30,49 (S + O)		"	"	"	schwach	s.stark	"
		B. III. α-Albumose	lösl. in 80%	43,98	6,91	14,25	1,63	33,23	"	"	"	stark	fehlt	fehlt
		B. III. β-Albumose	lösl. in 80%	52,32	7,32	15,36	1,21	23,79	"	"	"	"	"	"
		Peptonmelanin.	lösl. in 80—90%	60,70	6,68	11,46	21,16 (S + O)		fehlt	fehlt	?	"	"	"
Deutero-albumosen C.	100% + Säure	C. Albumose	lösl. in 67—80%	34,52	5,85	17.24	42.89 (S + O)		pos.	fehlt oder Spur	s.stark	fehlt oder Spur	"	"
		(Fibrin		52,68	6,83	16,91	1,10	22,48)						

Säure und Salz scheinen den Koagulationspunkt herabzusetzen. Die Trübung verschwindet in viel Essigsäure vollkommen, löst sich aber nicht wieder in der Wärme und nicht in Kochsalz. Versetzt man dieselbe Lösung vor dem Kochen mit Kochsalzlösung gleicher oder stärkerer Konzentration, so ist die beim Erhitzen auftretende Trübung um so geringer, je mehr Salz zugesetzt wurde, und bleibt endlich ganz aus. Solche Lösungen mit überschüssigem Salz, welche beim Kochen noch trüb werden, trüben sich beim Erkalten unter Abscheidung eines undeutlich flockigen Niederschlags stärker als vorher, ohne dass jedoch die Albumose vollständig ausfällt. Durch einen passenden Salzzusatz lassen sich nach Kühne und Chittenden ungesättigte Albumoselösungen herstellen, die beim Erwärmen milchig, dann beim Kochen klar werden und beim Erkalten Flocken absetzen.

Es kommt dabei aber nicht allein auf das Verhältnis der Menge der Albumose zur Menge der Salzlösung, sondern auch auf die Konzentration der Salzlösung an; so kann eine Albumoselösung in 3%iger Kochsalzlösung, welche sich beim Erhitzen nur wenig und beim Erkalten nicht viel stärker trübt, nach dem Verdünnen mit 1%iger Salzlösung beim Erhitzen und Erkalten einen bedeutenden Niederschlag geben.

Dieses Verhalten von Heteroalbumosenlösung gab Huppert Anlass, den Bence-Jonesschen Eiweisskörper (s. dort) und die Heteroalbumose in Parallele zu setzen, ja sogar zu identifizieren.

b) Die mit Kochsalz gesättigten Lösungen der sekundären Albumosen trüben sich bei der ihnen eigentümlichen schwach alkalischen Reaktion beim Kochen gar nicht.

c) Versetzt man die Lösung einer Albumose mit dem gleichen Volumen gesättigter Kochsalzlösung (Steinsalz) und darauf mit Essigsäure, so entsteht ein Niederschlag, der sich beim Erwärmen löst und beim Erkalten wieder auftritt. Die primären Albumosen geben dabei noch bei einer Verdünnung von 1:1000 eine deutliche Trübung, die Deuteroalbumose bloss bei 1:100 (Neumeister)[1]).

Setzt man zu wenig Essigsäure zu, so löst sich der Niederschlag in der Wärme nicht vollständig; verwendet man zu viel Essigsäure, so kann sich der Niederschlag schon in der Kälte lösen oder er tritt gar nicht erst auf. — Nur die Albumosen des Fibrins geben diese Reaktion, die Deuteroalbumosen aus Myosin, Vitellin, Eiereiweiss geben sie dagegen nicht.

Eine in der Wärme klar bleibende Lösung von Heteroalbumose in Salzwasser trübt sich nach Kühne und Chittenden auf Zusatz von Essigsäure, Salpetersäure oder Salzsäure und klärt sich durch mehr Säure wieder. Salpetersäure färbt die Lösung, schon in der Kälte, zugleich gelb. Die wieder klar gewordenen Lösungen bleiben auch beim Kochen und Wiedererkalten klar; fügt man mehr Kochsalz hinzu, so entsteht aufs neue ein Niederschlag; das Auftreten des Niederschlages ist also von dem Verhältnis zwischen Salz und Säure abhängig. Erhitzt man eine derartige trübe Lösung oder eine solche, die von vornherein nur mit so viel Säure versetzt worden war, dass eine eben merkliche Trübung entstand, so nimmt die Trübung in der Wärme zu, verschwindet beim Kochen und kehrt

[1]) Neumeister, Zeitschr. f. Biol. 26. 334.

in der Kälte wieder. Der Niederschlag ist auch hier kein vollständiger, es bleibt immer noch Albumose in Lösung.

Eine alkalische Heteroalbumosenlösung kann beim Kochen völlig klar bleiben.

d) Wird eine mit Heteroalbumose nahezu gesättigte Lösung in Kochsalz von 3—4% tropfenweise mit konzentrierter Salzsäure versetzt, bis sich der anfangs entstehende Niederschlag beim Umschütteln wieder löst, so wird beim Neutralisieren ein Teil der Albumose gefällt. Ebenso gibt eine mit konzentrierter Natronlauge versetzte, nahezu gesättigte Heteroalbumoselösung beim Neutralisieren einen Niederschlag. Kühne und Chittenden nehmen an, dass dabei ein dem Alkalialbuminat vergleichbarer Körper, Albumosat, entsteht. Kochen der Albumose mit verdünnter Soda oder Salzsäure von 0,2% ändert ihre Eigenschaften dagegen nicht.

7. Salpetersäure gibt mit einer wässerigen Deuteroalbumoselösung keinen Niederschlag, er tritt erst auf Zusatz von Kochsalz auf und bei den meisten Deuteroalbumosen (aus Fleisch, Eiereiweiss etc.) erst in salzgesättigter Lösung. Die Flüssigkeit färbt sich aber schon in der Kälte gelb. Die primären Albumosen geben dagegen auch ohne Salzzusatz Fällung bei einer Verdünnung von 3:100.

Bei Zusatz von wenig Säure verschwindet der Niederschlag beim Umschütteln wieder, durch mehr Säure wird er dauernd und ein weiterer Zusatz von Säure löst den Niederschlag wieder. Ein mässiger Niederschlag verschwindet beim Erwärmen und tritt beim Erkalten wieder auf.

8. Durch Essigsäure und Ferrocyankalium werden die primären Albumosen gefällt; die sekundären Albumosen werden im allgemeinen nicht gefällt (Kutscher, Pick)[1]; nur die Deuteroalbumosen A (nach Pick) zeigen mit Essigsäure-Ferrocyankalium eine Spur von Trübung. Die Niederschläge lösen sich (der aus Heteroalbumose bei Gegenwart einer genügenden, einige Prozent betragenden Menge Salz) in überschüssiger Essigsäure, mässige Niederschläge lösen sich auch beim Erwärmen und treten beim Erkalten wieder auf. Die Niederschläge unterscheiden sich aber darin, dass sich die der sekundären Albumosen in Kochsalz lösen, die der Heteroalbumose dagegen nicht.

Bei Zusatz von zu viel Essigsäure kann der Ferrocyankaliumniederschlag ganz ausbleiben, und auf Zusatz von zu viel Ferrocyankalium brauchen die sekundären Albumosen gar nicht auszufallen. Die Gegenwart von Pepton wirkt störend.

9. Trichloressigsäure gibt nach Obermayer mit Albumosen einen in der Wärme löslichen Niederschlag. Nach Martin[2]) wird Heteroalbumose am leichtesten gefällt, Deuteroalbumose am schwersten; verdünnte Deuteroalbumoselösung gibt mit Trichloressigsäure keinen Niederschlag. Die Niederschläge lösen sich in Lauge. Von den Pickschen Fraktionen gibt die sekundäre Albumose A eine starke Fällung, B ebenfalls einen Niederschlag, C nur eine Opalescenz.

---

[1]) F. Kutscher, Zeitschr. f. physiol. Ch. 23. 116. 1897. E. P. Pick, l. c.

[2]) Fr. Obermayer, Wiener med. Jahrb. 1888. 375; Jahresber. f. Tierch. 1889. 7. — C. J. Martin, Journ. of Physiol. 15. 377.

Digitized by Google

10. Von Metallsalzen fällen schwefelsaures Kupfer, sowie beide Bleiacetate in Kochsalz gelöste Heteroalbumose stark, die Niederschläge sind im Überschuss der Reagentien unlöslich. Quecksilberchlorid fällt nur die mit Essigsäure versetzte Lösung, der Niederschlag löst sich erst in einem sehr grossen Überschuss von Eisessig.

Mit der wässerigen Lösung der Protalbumose geben Kupfersulfat und Bleiessig im Überschuss lösliche, in der Wärme unlösliche Niederschläge, Quecksilberchlorid einen im Überschuss unlöslichen Niederschlag. Durch Kupfersulfat sind nach Neumeister [1]) noch Spuren der Protalbumose (1: 10 000) nachweisbar. Bleizucker fällt nur die genuin alkalische, nicht die angesäuerte Lösung, der Niederschlag ist im Überschuss des Reagens löslich.

Die Deuteroalbumosen geben mit den Metallsalzen dieselben Reaktionen wie die Protalbumosen, nur werden sie nach Neumeister selbst in konzentrierter Lösung durch Kupfervitriol nicht gefällt. — Dies gilt für das Gemenge von sekundären Albumosen, wie es durch Sättigen einer Lösung von sekundären Albumosen mit Ammoniumsulfat erhalten wird. Bei Fraktionierung nach Pick erhält man eine „sekundäre Albumose A", welche durch $CuSO_4$ fällbar ist.

Kupferoxydul (Kupfervitriol in Gegenwart von Bisulfit) fällt die (sekundären) Albumosen quantitativ (Huppert) [2]).

11. Bei dem Hofmeisterschen Verfahren zur Entfernung des Eiweisses beim Nachweis des Harnpeptons (Fällen durch Eisenchlorid bei neutraler Reaktion, S. 1125) werden nach Neumeister, sowie nach Matthes [3]) die Albumosen, im besonderen die Deuteroalbumose, nur höchst unvollständig niedergeschlagen.

12. Chondroitinsäure gibt nach Mörner mit Albumosen in Gegenwart von 0,2% Salzsäure oder Essigsäure eine in Chlornatrium leicht lösliche, milchige Trübung, und durch Nucleinsäure werden Albumosen entschieden weniger leicht gefällt als Eiweiss, doch gibt eine neutrale Nucleinsäurelösung nach Kutscher mit Albumose einen Niederschlag von Nuclein. — Taurocholsäure fällt nach Maly und Emich Albumose nicht; der sich bildende Niederschlag besteht aus Taurocholsäure. — Ein sehr empfindliches Fällungsmittel ist nach Kossel sowie nach Kutscher das Protamin, aber nur für die Protalbumose, nicht für die Deuteroalbumose; der Niederschlag tritt noch ein bei einer Verdünnung von mehr als 1 : 10 000. — Nach Loew [4]) wird Albumose (Wittesches Pepton) im Gegensatz zu Eiereiweiss und Kühneschem Pepton durch Formaldehyd sofort gefällt. — Mit einer Lösung von Globulin oder Syntonin in der gerade genügenden Menge Natriumcarbonat, aber nicht mit Serum- oder Eieralbumin geben nach Kutscher Proto- und Deuteroalbumose Niederschläge, welche sich in überschüssigem Alkali und in Säure lösen.

13. Alkaloidreaktionen. Von Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdänsäure werden nach Neumeister nur die primären Albumosen vollständig niedergeschlagen, von der Deuteroalbumose entgehen geringe Mengen der Fällung. Alménsche Tanninlösung fällt die Albumosen (noch bei 1 : 100 000), die Deuteroalbumose löst sich aber in salzfreier Flüssigkeit nach Kutscher, wie das Kühnesche Pepton, im Überschuss des Reagens. — Jodquecksilberkalium (in schwach salzsaurer Lösung), sowie überschüssige Pikrinsäure geben nach Neumeister selbst mit sehr verdünnten Albumoselösungen voluminöse Niederschläge; der mit dem Quecksilbersalz erzeugte Niederschlag löst sich beim Sieden in der sauren Flüssigkeit. Auch die Niederschläge, welche Metaphosphorsäure und Pikrinsäure mit den Albumosen geben, lösen sich in der Wärme wieder auf. Bei den Pikrinsäureniederschlägen ist das besonders

[1]) Neumeister, Zeitschr. f. Biol. **23**. 383.

[2]) Huppert, Zeitschr. f. physiol. Ch. **22**. 559.

[3]) Neumeister, Zeitschr. f. Biol. **26**. 334. — M. Matthes, Berliner klin. Wochenschr. **31**. 531. 1894.

[4]) K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv **6**. 379 u. 374. 1895. — Kutscher, a. a. O. — Maly und Emich, Monatsh. f. Ch. **4**. 96. — Kossel, Deutsche med. Wochenschr. 1894. 147. — Loew, Jahresber. f. Tierch. 1888. 273.

Digitized by Google

schön zu beobachten. — Die Fällungen der Deuteroalbumosen mit Jodquecksilberjodkalium, Jodwismutjodkalium, Jodjodkalium und HCl sind zum Teil im Überschuss von HCl leicht löslich. — Die Metaphosphorsäure fällt nach Kühne und Chittenden die Albumosen nicht vollständig, es bleibt ein durch Sättigen der Lösung mit Ammonsulfat noch fällbarer Anteil derselben in Lösung. Die Pyrogallussäure ist entgegen der Angabe von Axenfeld[1]) kein spezifisches Fällungsmittel der Albumosen. Über andere Alkaloidreaktionen der Albumosen s. S. 1087. — Bang[2]) hat in dem Gemenge der Albumosen auch Stoffe gefunden, die durch die Alkaloidreagentien bei neutraler Reaktion und durch Alkalien gefällt werden, also überwiegend basischer Natur sind.

14. Von den Farbenreaktionen sind mit Erfolg die Xanthoproteinreaktion, die Millonsche und die Biuretreaktion angestellt worden; in reinen Albumosenlösungen tritt die Biuretreaktion nach Neumeister noch ein bei einer Verdünnung von 1 : 10 000. Alle Albumosen liefern nach Kühne und Chittenden beim Kochen mit alkalischer Bleilösung Schwefelblei.

2. Das Verdauungspepton.

Obschon echtes Pepton kaum mit Sicherheit im Harn nachgewiesen ist, seien die wesentlichen Eigenschaften bezw. Unterscheidungsmerkmale dieser schwer definierbaren Stoffe hier kurz aufgeführt.

1. Die Peptone sind ungemein löslich in Wasser, auch in Eisessig, allen Salzlösungen, zum Teil sind sie auch in 96%igem Alkohol löslich.

2. Sie geben noch in sehr grosser Verdünnung die Biuretreaktion mit rein roter Farbe, die Xanthoproteinreaktion, und auch teilweise die anderen Farbenreaktionen der Eiweissstoffe.

3. Die Peptone der Pepsinverdauung des Fibrins lassen sich in einen, in 96%igem Alkohol löslichen Teil (Pepton B) und einen unlöslichen Teil (Pepton A) zerlegen.

4. Die Reaktion von Molisch ist mit diesem Pepton A positiv, mit dem Pepton B negativ. Die Reaktion von Adamkiewicz ist mit beiden negativ (Pick).

5. Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdänsäure, sowie Pikrinsäure und Gerbsäure geben in konzentrierten Lösungen Niederschläge, welche sich beim Erwärmen lösen, beim Erkalten wiederkehren. Das Tanninpraecipitat ist auch in Essigsäure löslich.

6. Jodquecksilberjodwasserstoff, Jodwismutjodwasserstoff, Trichloressigsäure, Jodjodwasserstoff fällen in wässeriger Lösung nicht, wohl aber nach Kühne[3]), Cohnheim und Krieger, Pick in konzentrierter Chlorcalciumlösung, Calciumnitratlösung und Ammoniumsulfatlösung. Ferrocyanwasserstoff und Metaphosphorsäure fällen nicht, ebensowenig Salpetersäure, auch nicht in salzgesättigter Lösung.

7. Die Peptone sind linskdrehend. Borkel[4]) fand für ein Pepsinfibrinpepton $[\alpha]_D^{20} = -36{,}36^0$. Siegfried und Scheermesser für ein Pepsin-Glutinpepton $= -77{,}5^0$.

In betreff der Harnpeptide, auf deren Anwesenheit aus dem Vorkommen peptidartiger Bindung geschlossen wird, siehe bei Peptidbindung bzw. bei den Amidosäuren sowie S. 1247.

[1]) R. Neumeister, Zeitschr. f. Biol. **26**. 340. — Kutscher l. c. — Kühne und Chittenden a. a. O. **22**. 448. 1886. — Axenfeld. Ann. di chim. e di farm. [4] 5. 193; Jahresber. f. Tierch. **17**. 5. 1887.

[2]) J. Bang. Zeitschr. f. physiol. Ch. **27**. 463. 1899.

[3]) W. Kühne. Zeitschr. f. Biol. **29**. 320. 1892. — O. Cohnheim und H. Th. Krieger. Ebenda **40**. 95. 1900. — E. P. Pick l. c.

[4]) C. Borkel. Zeitschr. f. physiol. Ch. 38. 289. 1903. — W. Scheermesser, Ebenda **37**. 363. 1903.

Digitized by Google

3. Die Harnalbumosen.

A. Vorkommen. Albumosurie. Es finden sich zahlreiche Angaben über das Vorkommen von Albumosen im Harn bei den verschiedensten abnormen Zuständen. Es scheint sich im wesentlichen um Stoffe zu handeln, die den sekundären Albumosen vergleichbar sind (Neumeister, Hofmeister, Krehl und Matthes)[1]. Die Angaben über Vorkommen von Albumosen im Harn sind vorsichtig zu bewerten, da Verwechslungen mit gewöhnlichem Eiweiss leicht vorkommen können, und auch ein sekundäres Entstehen von Albumosen durch Einwirkung chemischer Agentien auf gewöhnliches Eiweiss zu Täuschungen Anlass geben kann. Näheres siehe beim Nachweis der Albumosen. Die teilweisen Widersprüche in den Angaben, z. B. über die Häufigkeit der Albumosurie bei einfach fieberhaften Krankheiten, sind sicher auf den verschiedenen Wert der angewandten Nachweismethoden wenigstens zum Teil zurückzuführen.

Mittels der gewöhnlichen Albumosenreaktionen fand v. Jaksch Albumosen vorübergehend im Harn in einem Fall von Darmtuberkulose, Senator 7 mal bei verschiedenen Krankheitsprozessen, Löb häufig bei Masern (im Beginn der Deferveszenz), Heller in 2 von 7 Scharlachfällen, Köttnitz in einem Fall von Gravidität mit toter Frucht, aber auch in 2 Fällen bei gesunden Schwangeren mit lebender Frucht; die Albumose soll hier aus dem Fruchtwasser stammen. Lassar sah Albumose vor dem Eintritt der eigentlichen Albuminurie im Harn von Kaninchen erscheinen, die mit Petroleum übergossen waren, Jitta[2]) im Harn von Kaninchen nach subkutaner Injektion von Stoffen, welche die Blutkörperchen zerstören (Glycerin, Wasser, wässerige Hämoglobinlösung).

Nach v. Noorden, sowie nach Posner lässt sich in spermahaltigem Harn Albumose nachweisen; sie ist nach Posner[3]) nicht in den Spermatocoen, sondern in der Samenflüssigkeit enthalten und stammt aus den accessorischen Drüsen.

Georges, sowie Hugounenq haben in je einem Falle von syphilitischer Nephritis bei Milchdiät Albumose im Harn aufgefunden, und Hugounenq betrachtet Albumosurie als eine Teilerscheinung dieser Krankheit. Aber schon vorher hat Gérard bei Nephritikern in der ersten Zeit der Milchbehandlung neben Eiweiss auch Albumose im Harn nachgewiesen. Graziani[4]) hat mehrfach bei Syphilitikern mit Knochenschmerzen Albumosen gefunden.

---

[1]) R. Neumeister, Zeitschr. f. Biol. 26. 339. 1891. — F. Hofmeister, Zeitschr. f. analyt. Ch. 30. 110. — L. Krehl und M. Matthes, Archiv f. klin. Med. 54. 505. 1895.

[2]) v. Jaksch, Zeitschr. f. klin. Med. 8. 216. 1884. — Senator, Die Albuminurie im gesunden und kranken Zustande. Berlin 1882. 9. — M. Löb, Zentralbl. f. klin. Med. 15. 1889. — Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 31. 1891. — J. Heller, Berliner klin. Wochenschr. 48. 1889. — A. Köttnitz, Deutsche med. Wochenschr. 30. 1888. 613. 44—46. 1889. — Lassar, Virchows Archiv 77. 157. — N. M. J. Jitta, Jahresber. f. Tierch. 1885. 474.

[3]) C. v. Noorden, Archiv f. klin. Med. 38. 237. 1885. — O. Posner, Berliner klin. Wochenschr. 21. 1888. 417; Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1890. 497; 1892. 225.

[4]) Georges, Journ. de chimie et de pharm. [6] **5**. 326; Chem. Zentralbl. 1897. **1**. 1064. — L. Hugounenq, Journ. de chimie et de pharm. [6] **5**. 427; Chem. Zentralbl. 1897. **1**. 1216. — E. Gérard, Journ. de chimie et de pharm. [5] **26**. 104; Chem. Zentralbl. 1892. **2**. 658. — G. Graziani, Jahresber. f. Tierch. **32**. 783. 1902.

Digitized by Google

Als grundlegend sind die Untersuchungen von F. Hofmeister und von Maixner zu betrachten. An dem weiteren Ausbau der Lehre haben sich wesentlich beteiligt v. Jaksch, Pacanowski, Fischel, Stadelmann, O. Brieger, W. Robitschek, Krehl und Matthes [1]) u. a.

Nach Fischel tritt bei der Rückbildung des puerperalen Uterus Albumose im Harn auf; die Albumosurie beginnt meist nach der Geburt, dauert ausnahmslos bis zum 4., sehr häufig noch bis zum 7. Tag und erlischt nach dem 12. Tag vollkommen (Puerperale Form). Fischel hat ferner gefunden, dass schon im Harn Schwangerer nicht gar selten Albumosen meist in geringer Menge erscheinen, selbst schon 8 Wochen vor der Geburt, eine Wahrnehmung, die noch keine Erklärung gefunden hat. Diese Befunde von Fischel sind im wesentlichen bestätigt worden von Biagio, Köttnitz, Hirschfeldt, Jankowski, für den Abortus von Senz. Ito [2]) fand bei Wöchnerinnen in der Zeit vom 1.—10. Tag in 8 von 13 Fällen Albumosen, bei zwei Schwangeren im letzten Monat vermisste er sie.

Bei Unterbrechung der Ernährung physiologischer Gewebe kommt es zur Albumosurie; Pacanowski wies sie nach in je 2 Fällen von Embolie und von Gehirnapoplexie. Bei Kompression des Rückenmarkes infolge von Wirbelkaries nahm sie wahr E. Robitschek [3]), bei Gangrän W. Robitschek, bei Ulcus cruris Hirschfeldt.

Albumosurie beobachteten Schultzen und Riess bei akuter Leberatrophie, Stadelmann bei interstitieller Hepatitis und bei Lebercarcinom, Pacanowski ferner manchmal bei Icterus catarrhalis, Bouchard in vielen Fällen von Leberschwellung bei fieberlosen Kranken. (Hepatogene Form.) Zu derselben Form dürfte die Albumosurie zu rechnen sein, welche zuerst Schultzen und Riess, dann Maixner sowie v. Jaksch bei akuter Phosphorvergiftung wahrnahmen. Fischel hat sie durch Vergiftungsversuche an Hunden hervorgerufen. Nach einer Beobachtung von W. Robitschek [4]) tritt das Pepton bald nach der Vergiftung in grossen Mengen auf und nimmt im Verlauf der Krankheit immer mehr ab. Brieger vermisste Albumosen bei Lebercirrhose und in einem Fall von akuter Leberatrophie, Robitschek traf es bei Lebercirrhose nur einmal an (in einem mit Meningitis komplizierten Fall).

Maixner wies zuerst Albumosen im Harn bei Magenkrebs nach; er hielt die Albumosurie für abhängig vom Sitz des Carcinoms. Pacanowski glaubt aber, dass sie dem Carcinom überhaupt eigentümlich ist, er beobachtete sie auch bei Carcinom des Oesophagus, des Rectums, des Uterus, E. Robitschek bei Nierenkrebs, Brieger dagegen fand Albumosen wieder nur bei Carcinom des Magens, des Oesophagus und des Duodenums, auch in einem Fall von Magengeschwür, dagegen nicht bei Carcinomen anderer Lokalisation (Uterus, Mamma, Peritoneum, Gehirn, Leber etc.). Uri und Lilienthal fanden bei Magencarcinom

[1]) F. Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Ch. **4**. 253; Prager med. Wochenschr. 33 u. 34. 1880. — Maixner, Prager Vierteljahrsschr. **143**. 75. — v. Jaksch, Zeitschr. f. klin. Med. **6**. 413. 1882. — H. Pacanowski, Ebenda **9**. 429. 1885. — W. Fischel, Archiv f. Gynäkol. **24**. 400. 1884; Zentralbl. f. Gynäkol. 27. 1889. — E. Stadelmann, Archiv f. klin. Med. **33**. 526. 1883. — O. Brieger, Über das Vorkommen von Pepton im Harn. Diss. Breslau 1888. — W. Robitschek, Zeitschr. f. klin. Med. **24**. 556. — L. Krehl und M. Matthes, Deutsches Archiv f. klin. Med. **54**. 501. 1895.

[2]) Biagio, Zentralbl. f. Gynäkol. 1887. 529. — A. Köttnitz a. a. O. — H. Hirschfeldt, Diss. Dorpat 1892. — P. Jankowski, Diss. Dorpat 1893. — (Hirschfeldt und Jankowski, auch bei Stadelmann, Untersuchungen über die Peptonurie, Wiesbaden 1894. 68.) — K. Senz, Über Albumosurie und Peptonurie, Diss. Berlin 1891. — Midori Ito, Deutsches Archiv f. klin. Med. **71**. 29. 1901.

[3]) E. Robitschek, Prager med. Wochenschr. 1896. 116.

[4]) Schultzen und Riess, Charité-Ann. **15**. Chem. Zentralbl. 1869. 681; — Bouchard, L'Union méd. 136. 137. 1886; Virchow-Hirschs Jahresber. 1886. **1**. 249. — Fischel, Arch. f. Gynäk. **24**. 420. — W. Robitschek, Deutsche med. Wochenschr. 24. 1893.

Digitized by Google

in ²/₃ der Fälle Albumosen, bei gutartigen Magendarmerkrankungen in 13%. Ito[1]) fand bei Ulcus ventriculi in 2 von 8 Fällen Albumosen.

Ausserordentlich häufig ist Albumosurie bei der Resorption an farblosen Blutzellen reicher Exsudate beobachtet worden (pyogene Form), sie tritt auf nach Maixner bei croupöser Pneumonie zumeist im Lösungsstadium (und vorher, Brieger, Ito), bei eiteriger Pleuritis (Ito), Bronchoblennorrhöe, Lungenerweiterung bei Phthisis (Ito), Meningitis cerebrospinalis epidemica, Abscessbildung usw. v. Jaksch fügte diesen Krankheitsformen noch hinzu den akuten Gelenkrheumatismus und verschiedene Fälle von Sepsis mit Eiterherden, ferner einen Fall von einer geborstenen eiterigen Ovariencyste; einen ähnlichen Fall beobachtete Küster. v. Jaksch zeigte ferner, dass bei der tuberkulösen Meningitis das Pepton im Harn fehlt, wenn die Krankheit nicht mit Eiteransammlung (in der Lunge) kompliziert ist. Wassermann beobachtete Albumosurie auch bei Knocheneiterung, Hirschfeldt sowie Schultess bei Osteomyelitis, Pacanowski ferner bei chronischer Pneumonie, Angina, Muskelrheumatismus, Parotitis etc., Brieger bei exsudativer Peritonitis, Schultess bei Parotitis epidemica, bei Angina und bei Diphtheritis, W. Robitschek in einem Fall von Morbus Basedowii mit Myxödem. Sehr bemerkenswert ist der gleichfalls von Pacanowski geführte Nachweis, dass auch bei akuten Krankheiten Albumose im Harn auftritt, und zwar im Beginn der Defervescenz, wie Pacanowski besonders häufig bei Typhus abdominalis, aber auch bei Typhus exanthematicus, Pocken, Scharlach, Erysipelas, Intermittens beobachtete; Hirschfeldt und Jankowski, Belfiore bestätigen diese Angaben für Variola, Schultess, Tobeitz, Nemser für Scharlach; die einschlägigen Beobachtungen von Heller bei Scharlach und von Löb bei Masern sind oben erwähnt. Senz sah Pepton bei akutem Pemphigus auftreten. Grocco beobachtete Albumosurie bei Malaria zur Zeit der Anfälle und Robitschek bringt einen ebensolchen Fall bei. Durch Injektion von Tuberkulin wird nach Kahler und nach Devoto Albumosurie hervorgerufen. Fieber an sich aber bewirkt nach Schultess keine Albumosurie. Bei infektiösen Kinderkrankheiten sind im allgemeinen häufiger Albumosen im Harn zu konstatieren (Sommerfeld, Cattaneo, Valvassori). — Nach Heilseruminjektionen tritt regelmässig Albumose im Harn auf (Cattaneo). — Nach Tuberkulininjektionen häufig (Halpern[2])).

Bei Leukämie fanden nur Köttnitz und E. Robitschek Albumosen im Harn, dagegen Maixner, v. Jaksch[3]) nicht; in 2 Fällen, welche W. Robitschek untersuchte, war die Reaktion schwach oder zweifelhaft.

Bei Blutergüssen unter die Haut ist wiederholt Albumosurie zur Beobachtung gekommen (hämatogene Form), so bei Skorbut (v. Jaksch), Purpura haemorrhagica (Grocco), traumatischer Ecchymose (Pacanowski); diese Wahrnehmungen sind mehrfach bestätigt worden. Es handelt sich hier entweder um Resorption des ergossenen Blutes oder wie bei der Embolie um Ernährungsstörungen oder um beides zugleich.

---

[1]) Maixner, Zeitschr. f. klin. Med. 8. 234. 1884. — H. Ury und E. Lilienthal, Archiv f. Verdauungskrankh. 11. 72. 1904. — Midori Ito, Deutsches Archiv f. klin. Med. 71. 29. 1901.

[2]) M. Wassermann, De la peptonurie etc. Thèse. Paris 1885. — E. Schultess, Archiv f. klin. Med. 58. 325. 1897. — P. Grocco, Annali univ. di med., Agosto 1884; Virchow-Hirschs Jahresber. 1884. 1. 242. — Belfiore, Gazz. d. Ospedali 1901 Nr. 24. 3. T. 31. 823. — A. Tobeitz, Archiv f. Kinderheilk. **34.** Heft 3 u. 4. 1903. — M. Nemser, St. Petersburger med. Wochenschr. 1899. Beilage p. 8. — P. Sommerfeld, Archiv f. Kinderheilk. **23.** 193. 1897. — Cl. Cattaneo, Jahrb. f. Kinderheilk. 46. 263. 1897. — Valvassori, Jahrb. f. Tierch. 32. 785. 1902. — M. Halpern, Berliner klin. Wochenschr. 1903. 685; Gazz. lekarska **38.** 776. 1903.

[3]) Köttnitz, Berliner klin. Wochenschr. **33.** 1890. 794. — Maixner, Zeitschr. f. klin. Med. 8. 247. — v. Jaksch, Zeitschr. f. klin. Med. **6.** 423; Zeitschr. f. physiol. Ch. **16.** 247.

Digitized by Google

Der oben angeführten Beobachtung von Jitta über die Bewirkung von Albumosurie durch Substanzen, welche Blutkörperchen zerstören und zweifellos auch andere Gewebe schädigen, schliessen sich an die von Schultess über Antipyrin, von Piccinini[1]) über Antifebrin und Guajacol (subkutan) und von W. Robitschek über Kohlenoxyd, von Halpern über Silbernitrat, Jodtinktur, Pyrodin (Acetylphenylhydrazin), von Haack über Silbernitrat und Jodtinktur.

Nach einer besonderen Methode (s. dort) haben Morawitz und Dietschy bei fieberlosen Krankheiten Albumosen stets vermisst.

Dass nach subkutaner oder intravenöser Injektion von Albumosen Albumosurie auftritt, ist eine oft bestätigte Tatsache (s. auch Halpern, Cevidalli und Jennoni[2])).

Häufig ist die Albumosurie nach Maccabruni, Morro, Köppen bei Geisteskranken, namentlich nach Fronda sowie nach Meyer und Meine[3]) bei Paralytikern.

Bei reiner Nephritis fehlt Albumose im Harn (Jolowicz)[4]).

Eine besondere Erörterung erheischt die „febrile Albumosurie".

Krehl und Matthes kamen ebenso wie ihr Schüler Schultess zu dem überraschenden Resultat, dass bei 90% fiebernder Kranker Albumosen im Harn ausgeschieden werden, die als Deuteroalbumosen charakterisiert werden konnten. Fieberlose Kranke zeigten dagegen in 77% keine Albumosurie. Nur Magenkranke und solche, bei denen die Temperatur durch Antipyretica künstlich herabgesetzt war, zeigten bisweilen auch im fieberfreien Zustand Albumosen im Harn. Zum Nachweis wurde der eiweissfreie, resp. durch Essigsäure vom Nucleoalbumin befreite Harn mit dem 6fachen Volum Alkohol gefällt und der entstandene Niederschlag nach 12—24 Stunden mit warmem Wasser extrahiert. Mit dem Filtrat wurde dann die Biuretprobe angestellt. Durch diese Untersuchungen schien die Existenz einer febrilen Albumosurie bewiesen. Die Lehre von der febrilen Albumosurie steht aber mit früheren Untersuchungen (s. vorher) zum Teil im Widerspruch, denn bei vielen mit hohem Fieber verlaufenden Infektionskrankheiten (Typhus, Miliartuberkulose, Scharlach) hatte man in einem grossen Prozentsatz der Fälle die Albumosen vermisst. Auch spätere Untersucher, die zum Teil nach anderer Methode arbeiteten, konnten sich von der regelmässigen Beziehung zwischen Fieber und Albumosurie nicht überzeugen (v. Aldor, Nemser, Finigan, Ehrström, Haack, Sommerfeld, Klemperer). Gegen die von anderen angewandten Methoden haben Morawitz und Dietschy[5]) Bedenken erhoben (s. später). Nach einer neuen Methode gelangten dieselben zu Resultaten, die von denen anderer Untersucher wesentlich abweichen. Sie fanden zunächst bei fieberlosen Krankheiten (Leukämie, Nephritis, maligne Tumoren, Pneumonie nach

[1]) A. Piccinini, Ann. di chim. e di farm. **18**. 230. 1890; Jahresber. f. Tierch. 1893. 578. — M. Halpern, l. c. — E. Haack, Archiv f. exper. Pathol. u. Pharm. **38**. 175. 1897.

[2]) Halpern l. c. — Cevidalli und Jennoni, Jahresber. f. Tierch. 31. 823. 1901.

[3]) Maccabruni, Morro, bei Fronda. — Köppen, Archiv f. Psychiatrie **20**. 1889. — R. Fronda, Jahresber. f. Tierch. 1894. 631. — H. Meyer und H. Meine, Archiv f. Psychiatrie **27**; Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1896. 320.

[4]) Jul. Jolowicz, Diss. Würzburg 1902.

[5]) L. Krehl und M. Matthes, Deutsches Archiv f. klin. Med. 54. 501. 1895. — E. Schultess, Ebenda **58**. 325, sowie **60**. 55. 1897. — L. v. Aldor, Berliner klin. Wochenschr. 1899. 746 u. 785. — M. Nemser, St. Petersburger med. Wochenschr. 1899. Beilage 8. — D. O. Connel Finigan, Diss. Berlin 1902. — R. Ehrström, Akademisk Afhandling. Helsingfors. Archiv f. Gynäk. 63. 695. 1901. — E. Haack, Archiv f. exper. Pathol. u. Pharm. **38**. 175. 1897. — Sommerfeld, Archiv f. Kinderheilk. **23**. 193. 1900. — G. Klemperer, Studien zur Ätiologie des Fiebers. Verhandl. d. Gesellsch. deutsch. Naturf. u. Ärzte. Kassel 1903. — P. Morawitz und R. Dietschy, Archiv f. exper. Pathol. u. Pharm. **54**. 88. 1906. — R. Dietschy, Diss. Basel 1906.

Digitized by Google

dem Entfiebern, Urticaria, Arthritis urica, Tuberculosis pulmonalis mit Amyloidniere) niemals Albumosen. Bei den verschiedensten fieberhaften Krankheiten fanden sie in 30 von 80 Fällen Albumosen. Es ist demnach eine direkte Beziehung zwischen erhöhter Temperatur und Albumosurie keineswegs erwiesen, vielmehr hat man vorläufig keinen Grund, das Auftreten von Albumosen im Harn von anderen Momenten als von der Resorption zerfallenden Zellmaterials abhängig zu machen.

Küthe[1]) hat nach der Methode von v. Aldor (für die Bedürfnisse des mucinreichen Pferdeharns modifiziert, s. später) den Harn von Pferden und Kühen untersucht. Bei gesunden Pferden und Kühen treten keine Albumosen auf. Bei verschiedenen akuten, fieberhaften Krankheiten der Pferde besteht Albumosurie. Bei der Brustseuche ist die Albumosurie unabhängig von der Resorption der Exsudate. Erhebliche Tuberkulose scheint mit ständiger Albumosurie verbunden zu sein. Die Menge der ausgeschiedenen Albumosen soll auf den Grad der Allgemeinstörung schliessen lassen.

Histon trafen Krehl und Matthes an bei allgemeiner Peritonitis, bei Pneumonie in der zweiten Hälfte der Krankheit, bei Erysipel und bei Scharlach, dagegen nicht bei Tuberkulose. — Kolisch und Burian wiesen es nach in einem Fall von Lymphämie. Eine Verbindung desselben, das Nucleohiston, gibt Jolles[2]) an in einem Falle von Pseudoleukämie gefunden zu haben.

Über die Grösse der Albumosenausscheidung hat Maixner[3]) nach der kolorimetrischen Methode von Hofmeister einige Beobachtungen angestellt. Am meisten erscheint im Harn bei Empyem (0,66% des Harns oder 4,96 g in der Tagesmenge) und bei der croupösen Pneumonie im Lösungsstadium (0,69 und 0,76% oder über 4 g in der Tagesmenge). Andererseits können die Albumosenmengen aber auch sehr gering sein (0,065% in einem Fall von zellenarmem Empyem). Viel fand sich auch in einem Fall von Peritonitis suppurativa (0,33 bis 0,74%), wohl wegen der grossen Resorptionsfläche.

B. Eigenschaften der sekundären Albumosen insbesondere. (Ergänzung zu S. 1194.)

1. Die Albumosen sind in ihrer Zusammensetzung, aber, soweit bis jetzt bekannt, nicht in ihren chemischen Eigenschaften, nach dem Eiweisskörper, aus welchem sie entstanden sind, verschieden. Das Eiterpepton ist nach F. Hofmeister[4]) ein echtes Eiweisspepton.

2. Die Albumosen sind amorph. Sie lösen sich leicht in Wasser, schwer dagegen, wiewohl besser als Albumin, in Alkohol; Alkohol fällt aus neutraler Lösung zusammenfliessende Flocken, die sich auch nach noch so langem Verweilen unter Alkohol wieder leicht in Wasser lösen. Seine wässerigen Lösungen diffundieren zwar nicht besonders leicht, aber doch leichter als die Lösungen des Albumins und des Globulins. Es lenkt die Ebene des polarisierten Lichts nach links ab. Durch mehrstündiges Erhitzen der trockenen sekundären Albumosen auf 140° werden dieselben in eine Substanz verwandelt, welche die

[1]) Heinrich Küthe, Albumosurie bei Tieren. Diss. Giessen 1908.
[2]) L. Krehl und M. Matthes, Zentralbl. f. inn. Med. 1895. 387; Archiv f. klin. Med. **54**. 509. 1895. — R. Kolisch und R. Burian. Zeitschr. f. klin. Med. **29**. 374. 1896. — A. Jolles, Bericht d. chem. Gesellsch. **30**. 172. 1897.
[3]) Maixner, Zeitschr. f. klin. Med. **11**. 342. 1886.
[4]) F. Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Ch. **4**. 270.

Digitized by Google

Reaktionen der primären Albumosen gibt (Hofmeister, Henninger)[1]).

Die verschiedenen Albumosen besitzen ein verschiedenes Drehungsvermögen; die spezifische Drehung des „Fibrinpeptons" bestimmte F. Hofmeister[2]) zu $[a]_D = -63{,}5^0$. Dieses „Fibrinpepton" war ein Gemenge von Albumosen und Pepton.

3. Die Albumosen vereinigen sich, wie die anderen Eiweisskörper, mit Basen und mit Säuren, sowie mit Salzen.

Versetzt man eine Albumosenlösung mit Kalk- oder Barytwasser, so fällt nach Henninger[3]) Kohlensäure nur einen Teil der Basis; Alkohol scheidet dann aus der Flüssigkeit Kalk- oder Barytpepton ab. — Die Verbindungen des Peptons mit Salzen (Chlorcalcium, Phosphaten usw.) sind gleichfalls in Alkohol unlöslich.

4. In der Siedehitze gibt eine Albumosenlösung bei keiner Reaktion einen Niederschlag.

5. Von den Neutralsalzen gibt nur das Ammonsulfat, beim Sättigen der Lösung mit dem Salz, mit den sekundären Albumosen einen Niederschlag. Wie das Ammonsulfat verhält sich nach Bömer auch das Zinksulfat. Die mit Kochsalz gesättigte Lösung der Harnalbumosen wird nach Krehl und Matthes[4]) durch Zusatz von salzgesättigter Essigsäure nicht vollständig gefällt.

6. Durch Salzsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure, Essigsäure werden die sekundären Albumosen weder in der Wärme noch in der Kälte gefällt; in einer mit Bittersalz gesättigten Peptonlösung entsteht aber auf Zusatz von Säure ein Niederschlag von Pepton (Hofmeister)[5]).

7. Fast alle eiweissfällenden Reagentien (S. 1112 u. ff.) schlagen auch die sekundären Albumosen nieder. Vom Eiweiss unterscheidet es sich aber dadurch, dass es nach Brücke (in Gegenwart von Neutralsalz) durch Essigsäure und Ferrocyankalium nicht gefällt wird.

a) Die Phosphorwolframsäure fällt bei Gegenwart einer Mineralsäure. Die Fällung ist nach Hirschler vollständig; nach Schulze und Barbieri entsteht noch mit Albumosenlösungen von 0,02% deutliche Trübung. Der Niederschlag löst sich in der Wärme. Von der Phosphorwolframsäure werden die Albumosen auch bei Gegenwart von Essigsäure niedergeschlagen, während andere durch Phosphorwolframsäure fällbare Harnbestandteile (Kreatinin usw.) wohl bei Gegenwart einer Mineralsäure, aber nicht von Essigsäure mit Phosphorwolframsäure Niederschläge geben (F. Hofmeister). In Gegenwart von Essigsäure ist die Fällung jedoch unvollständig (Schulze und Barbieri) und braucht auch gar nicht einzutreten; Albumosenlösungen mit nur wenig mehr als 0,01% werden durch Essigsäure und Phosphorwolframsäure erst in einigen Minuten

[1]) F. Hofmeister, l. c. — A. Henninger, De la nature et du rôle physiologique des peptons. Paris 1878. — Compt. rend. **86.** 1413 u. 1461. 1878.

[2]) F. Hofmeister, a. a. O. 272.

[3]) A. Henninger, De la nature et du rôle physiol. des peptons. Paris 1878. 43.

[4]) A. Bömer, Zeitschr. f. analyt. Ch. **34.** 562. 1895. — L. Krehl und M. Matthes, Archiv f. klin. Med. **54.** 505. 1895.

[5]) F. Hofmeister, Zeitschr. f. analyt. Ch. **20.** 319.

Digitized by Google

milchig getrübt (Hofmeister). Ebenso ist nach Maixner[1]) in Gegenwart freier Phosphorsäure die Fällung nicht so vollständig, als in Gegenwart von Salzsäure.

b) Tannin fällt die Albumosen nur aus neutralen oder schwach sauren Lösungen; in Essigsäure oder Salzsäure ist der Niederschlag löslich. Reine Lösung sekundärer Albumosen gibt auch bei beträchtlicher Konzentration mit Gerbsäurelösung nur eine Trübung, jedoch sofort einen dichten Niederschlag, wenn in der Lösung Neutralsalz enthalten ist, bei genügendem Salzgehalt der Lösung wird die Albumose noch in einer Verdünnung von 1 : 10 000 durch Gerbsäure als deutliche Trübung nachgewiesen. In Berührung mit Wasser gibt der Gerbsäureniederschlag Gerbsäure ab und Albumose geht in Lösung (F. Hofmeister).

c) Rhodankalium und Essigsäure, das Reagens von Zouchlos, schlägt Albumose nicht nieder (Schick).

d) Nach Dillner sowie Obermayer kann Albumose zwar auch durch Metaphosphorsäure gefällt werden, der Niederschlag löst sich aber leicht wieder in der überschüssigen Säure (S. 1114).

e) Die Niederschläge, welche die Albumosen geben mit Pikrinsäure, Salicylsulfonsäure, Asaprol, Aseptol, Trichloressigsäure, Wolframsäure, mit Chromsäure und mit Jodquecksilberkalium (Tanrets Reagens) lösen sich in der Wärme und treten in der Kälte wieder auf. Der Pikrinsäureniederschlag löst sich nach Johnson[2]) im Gegensatz zum Eiweiss in wenig kalter Salpetersäure.

f) Quecksilberchlorid fällt die Albumosen aus neutraler Lösung, aber nicht aus essigsaurer. Spieglers Reagens soll nach seiner Angabe zwar Albumose niederschlagen, aber nicht Harnalbumosen.

8. Von Metallsalzen fällen die Albumosen, ausser den unter 7 genannten noch salpetersaures Quecksilberoxyd, essigsaures Blei und Ammoniak, salpetersaures Silber und wenig Ammoniak, Kupferoxydulsalz, Goldchlorid und Platinchlorid; basisch essigsaures Blei gibt nur eine Trübung. Mit Eisenoxydsalzen geben sie keinen Niederschlag, färben sich aber mit ihnen rot wie andere Eiweisskörper und wie die Amidosäuren.

Eisenoxydsalz schlägt auch dann die Albumosen nicht nieder, wenn die Flüssigkeit neutralisiert und danach gekocht wird, während auf diese Weise echte Eiweisskörper und ein Teil der Albumosen gefällt werden (S. 1199). Auch Kupfersulfat gibt nach Krehl und Matthes[3]) mit der neutralen Lösung der Harnalbumosen keinen Niederschlag.

9. Die Farbenreaktionen der Eiweisskörper (S. 1089) geben die sekundären Albumosen gleichfalls, die Xanthoproteinreaktion schon in der Kälte; die Biuretreaktion ist mehr rot bis rotviolett wie die des Albumins.

Die Biuretfärbung ist nach Hofmeister in einer 5 cm dicken Schicht noch sichtbar bei einer Verdünnung von 1 : 12 000, nach Schulze und Barbieri

---

[1]) A. Hirschler, Zeitschr. f. physiol. Ch. **11**. 28. 1887. — Schulze und Barbieri, Journ. f. Landwirtsch. **29**. 291 u. 287. 1881. — Maixner, Zeitschr. f. klin. Med. **11**. 344. 1886.

[2]) G. Johnson, Brit. Med. Journ. 1883; Zeitschr. f. analyt. Ch. **23**. 115.

[3]) L. Krehl und M. Matthes, a. a. O.

Digitized by Google

in 3—4 cm dicker Schicht nicht mehr bei einer Verdünnung von 1 : 10 000, wohl aber bei der halben Verdünnung.

10. Fibrin„pepton" liefert beim Schütteln mit Bromlauge nach Schulze und Barbieri[1]) auf 1 g Substanz 9,0 ccm Stickstoff (0° und 760 mm Hg), beim Behandeln mit Kaliumnitrit und verdünnter Schwefelsäure nach Sachsse-Kormann 24,5 ccm; Leim„pepton" auf 1 g mit Bromlauge 14,2 ccm, mit salpetriger Säure 13,3 ccm N_2.

C. Nachweis. 1. Zum Nachweis von Albumose überhaupt bedient man sich der unter S. 1195 und 1197 angegebenen Reaktionen mit Salz- und Essigsäure, mit Salpetersäure und mit Ferrocyanwasserstoff. Es sind dieselben, welche zum Aufsuchen von Eiweiss im Harn verwandt werden. Diese direkten Proben im Harn sind weder sehr genau, noch schützen sie genügend vor Verwechslungen. Sie sind nur zur vorläufigen Orientierung brauchbar.

a) Versetzt man einen albumosehaltigen Harn sogleich nach dem Kochen mit etwas Salpetersäure, so bleibt er klar und trübt sich nur schwach, indem er sich zugleich stärker gelb färbt; beim Erkalten oder Abkühlen entsteht aber ein starker weisser oder gelber oder rötlichgelber Niederschlag, der sich beim Erwärmen löst, beim Erkalten wiederkehrt. In der Kälte gibt der Harn auf Zusatz von wenig Salpetersäure einen Niederschlag, der beim Umschütteln wieder verschwindet, mit mehr Salpetersäure aber einen dauernden Niederschlag; dieser löst sich gleichfalls in der Wärme und tritt beim Erkalten wieder auf. — Diese Reaktion ist nicht ganz sicher, weil bei der Einwirkung der Säure auf Eiweiss auch Albumose entstehen und andererseits, weil wenig Albumose übersehen werden kann; albumosearmer Harn gibt selbst in der Kälte nur dann einen Niederschlag, wenn er mit sehr wenig Salpetersäure versetzt wird.

b) Bei der Prüfung des Harns mit Essigsäure und Ferrocyankalium entsteht ein Niederschlag, der sich in der Wärme löst und beim Erkalten wieder auftritt. Er löst sich auch in überschüssiger Essigsäure und, bei Abwesenheit von Heteroalbumose, auch in Neutralsalzlösungen (Kochsalz, Ferrocyankalium). In sehr salzreichen oder albumosearmen Harnen kann der Niederschlag (wenn nur oder vorwiegend die sekundären Albumosen vorhanden sind) sehr schwach sein, er tritt aber mit unverkennbarer Deutlichkeit auf, wenn man den Harn vor der Reaktion auf das Mehrfache verdünnt.

Für sich allein beweist ein auf Zusatz von Essigsäure und Ferrocyankalium entstehender Niederschlag nichts für die Gegenwart von Albumose, da auch Eiweiss einen solchen gibt. Die Prüfung der Löslichkeit des Niederschlages in der Wärme ist nicht verlässlich, weil Ferrocyanwasserstoff in der Wärme für sich einen (blauen) Niederschlag bildet; auch die Prüfung des Niederschlages auf seine Löslichkeit in Essigsäure und in Salz ist unsicher. Tritt aber bei dieser Probe ein starker Niederschlag ein, dagegen in dem noch heissen Harn auf Zusatz von Salpetersäure keiner oder ein im Vergleich mit jenem nur schwacher, so ist die Gegenwart der Albumose gesichert. In albumosearmen (unverdünnten) Harnen kann auch der Ferrocyankalium-Niederschlag schwächer ausfallen, als der ist, welcher n dem mit Salpetersäure versetzten, gekochten Harn beim Erkalten auftritt.

c) Stellt man die Eiweissprobe durch Kochen des Harns mit Salz und Essigsäure nach Panum an, so bleibt Eiweiss ungelöst, in Anwesenheit von Albumose entsteht aber in der heiss filtrierten Flüssigkeit beim Erkalten ein Niederschlag. Dann tritt auch bereits beim Zusatz der Reagentien ein Niederschlag auf, der sich beim Kochen löst, während das Eiweiss abgeschieden wird. Dieses Verfahren schützt am besten vor einer Verwechselung der Albumose mit Eiweiss.

[1]) E. Schulze und Barbieri, l. c.

Bei allen diesen Reaktionen setzt sich die Albumose nur selten in scharf begrenzten Flocken ab; meist ist die Flüssigkeit nur gleichmässig getrübt, im günstigsten Falle lagern sich in der trüben Flüssigkeit undeutliche Flocken ab; die Niederschläge haben das Aussehen schlecht koagulierter Albuminlösungen.

d) Pikrinsäure (B. 7. e.) gibt mit Harn, auch wenn er nur wenig Albumose enthält, einen mächtigen, sehr feinflockigen gelben Niederschlag, der sich auch beim Erwärmen wieder löst und beim Erkalten wieder zum Vorschein kommt. Da normaler Harn beim Kochen mit Pikrinsäure einen grobflockigen Niederschlag gibt, so muss man den Harn heiss filtrieren, wenn man sich von der Bildung eines beim Erkalten entstehenden Niederschlages mit Sicherheit überzeugen will (S. 1116).

e) Wie weit sich die übrigen Eiweissreagentien, deren Albumoseniederschläge in der Wärme löslich sind (B. 7. c.), für den Nachweis von Albumose im Harn eignen, ist nicht bekannt.

Die Trichloressigsäure-Niederschlag (Seite 1198) tritt nach Martin sehr schnell nach dem Kochen auf und man muss daher, wenn man ihn gesondert erhalten will, durch einen Wasserbadtrichter filtrieren. Mit der Lösung des Niederschlages in Lauge lässt sich die Biuretreaktion anstellen. — Jodquecksilberkalium fällt aus saurer Lösung Eiweiss, Albumose, Alkaloide; die Vorschrift zur Trennung derselben ist S. 1119 angegeben. Das Reagens fällt übrigens nach Tanret oft aus normalem Harn eine nicht näher bekannte Substanz.

2. Die zum Nachweis der Harnalbumosen dienenden Proben sind solche, welche Eiweisskörper überhaupt anzeigen (allgemeine Eiweissreaktionen). Sie dürfen also nur auf Harn angewendet werden, der frei von allen anderen Eiweisskörpern ist. Enthält der Harn Eiweiss, so muss dieses bis auf die letzten Spuren abgeschieden werden, wozu die Fällung mit Eisenchlorid (S. 1125) empfehlenswert ist; blosses Kochen des Harns ist völlig unzureichend. Enthält der Harn mucinähnliche Substanz in solcher Menge, dass er sich auf Zusatz von Essigsäure merklich trübt, so versetzt man ihn mit nur so viel essigsaurem Blei, dass ein dichter flockiger Niederschlag entsteht.

a) Direkt im Harn lassen sich die Albumosen, hauptsächlich wegen ihrer meist zu geringen Menge, nicht sicher nachweisen. Die dazu in Vorschlag gebrachten Proben können nur zu einer Vorprüfung dienen.

α) Nach Hofmeister[1]) versetzt man den Harn mit $^1/_5$ Volumen konzentrierter Essigsäure und darauf mit Phosphorwolframsäure. Bleibt die Probe auch nach längerem Stehen völlig klar, so enthält der Harn keine Albumosen, zeigt dagegen die Probe sofort oder nach einiger Zeit (10 Minuten) eine milchige Trübung, so kann der Harn Albumosen enthalten.

Der negative Ausfall der Prüfung ist nicht ganz verlässlich; Brieger[2]) sah die Reaktion in 8 Fällen ausbleiben, in welchen sich der Harn bei genauerer Untersuchung als albumosehaltig erwies.

β) v. Jaksch[3]) prüft den eiweissfreien Harn mittels der Biuret-

---

[1]) Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Ch. 5. 73. 1881.
[2]) O. Brieger, a. a. O. 42.
[3]) v. Jaksch, Mitteil. des Wiener med. Doktorenkollegiums 10; Jahresber. f. Tierch. 1885. 238.

Digitized by Google

probe; tritt sie ein, so gilt der Harn als albumosenhaltig. Eine Kontrolle durch eine andere Nachweismethode ist nötig.

Die Färbung ist nicht violett, sondern rot oder braunrot, weil der gelbe Harn das Blau des Violett auslöscht. Man kann nach dem Vorschlage von Posner-Salkowski[1]) die Kupfersulfatlösung auf den alkalisch gemachten Harn schichten; eine Lösung mit 5 ccm kalt gesättigter Kupfersulfatlösung im Liter besitzt dazu die genügende Konzentration.

γ) Die Petrische Diazoreaktion (s. S. 1095) ist nicht auf den Harn anwendbar. Normaler Harn wird nach Pacanowski mit dem Reagens braunrot, ohne indes nach Brieger[2]) die übrigen Erscheinungen einer Albumosenlösung zu zeigen, und Albumosenharn verhält sich nach Brieger wie normaler.

3. Sicherer gelangt man zum Ziele, wenn man die Albumosen aus dem Harn abscheidet.

a) Phosphorwolframsäureverfahren. α) Verfahren von Hofmeister. Hofmeister[3]) hat dazu Fällung mit Phosphorwolframsäure oder mit Gerbsäure empfohlen. Von diesen beiden Methoden führt die erste nicht bloss schneller zum Ziele, sondern sie gibt auch schärfere Resultate; während man mittels der Gerbsäure nur dann noch Albumosen im Harn nachweisen kann, wenn er 0,15 bis 0,20 g im Liter enthält, lässt sich mittels der Phosphorwolframsäure noch 0,1 g im Liter auffinden. (Wegen des Verhaltens des echten Peptons [„Kühne"] zu Phosphorwolframsäure und Gerbsäure s. S. 1200.)

Um Albumosen aus dem Harn abzuscheiden, wird er (0,5 Liter), wenn nötig, nach der unter C. 2. angegebenen Weise von Eiweiss und der mucinähnlichen Substanz befreit, dann zunächst mit 0,1 Volum konzentrierter Salzsäure und darauf abwechselnd mit Phosphorwolframsäure und Salzsäure versetzt, bis er mit keinem dieser Reagentien einen Niederschlag mehr gibt. Der Niederschlag wird bald abfiltriert; denn lässt man ihn unter der Flüssigkeit stehen, so scheidet sich auf ihm ein zweiter rötlicher Niederschlag (von Harnsäure?) ab, welcher auf den späteren Nachweis der Albumosen störend einwirkt. Der Niederschlag wird auf dem Filter mit einer Lösung von 3—5 Volumen konzentrierter Schwefelsäure in 100 ccm Wasser gewaschen, bis das Filtrat farblos abläuft, dann noch feucht mit überschüssigem festen Bariumhydrat innig verrieben, schliesslich nach Zusatz von etwas Wasser kurze Zeit gelinde erwärmt und filtriert; bei stärkerem Erhitzen erhält man dunkel gefärbte Filtrate, was möglichst zu vermeiden ist. Auch kann man den Phosphorwolframsäureniederschlag in kohlensaurem Natron lösen. — Die neben den Albumosen aus dem Harn fallenden Substanzen beeinträchtigen den Nachweis der Albumosen nicht.

Mit der Lösung stellt man die Biuretprobe an, welche, wegen der gelben Farbe der Lösung, wie beim Harn (s. oben) nur eine rote Färbung ergibt. Schichtet man die Kupfervitriollösung auf die Peptonlösung, so fällt langsam schwefelsaurer Baryt aus und die Biuretfärbung ist dann gut an der überstehenden klaren Flüssigkeit zu sehen. Die Flüssigkeit zu filtrieren, ist nicht rätlich, weil dadurch die Färbung an Intensität einbüsst. Hat man den Phosphorwolframsäure-Niederschlag in kohlensaurem Natron gelöst, so kommt selbstverständlich die Störung durch den Barytniederschlag in Wegfall.

[1]) C. Posner, Du Bois' Archiv 1887. 495.

[2]) Pacanowski, Gazetta lekarska 19. 1884; Virchow-Hirschs Jahresber. 1884. 1. 155; Zeitschr. f. klin. Med. 9. 431. 1885. — Brieger, a. a. O. 43.

[3]) Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Ch. 4. 253 u. a. a. O.

Digitized by Google

Diese Albumosenlösungen sind immer mindestens gelb; manche Harne, so stark ikterische, liefern auch (direkt oder erst auf Zusatz von Natron) eine rote Lösung, mit der sich die Biuretreaktion gar nicht anstellen lässt. Die Entfärbung mittels Tierkohle ist verwerflich, weil diese auch die Albumosen leicht aufnimmt (Hofmeister, Schulze und Barbieri). Dagegen lässt sich das von Schulze und Barbieri [1]) geübte Entfärben von Peptonlösungen aus Pflanzen mit einigen Tropfen konzentrierter Bleizuckerlösung mit Vorteil auch auf den Harn anwenden. W. Fischel hat solche rote Lösungen entfärben können, indem er sie nach dem Ansäuern mit Luft schüttelte. — Manche färbende Substanzen, wie Gallenfarbstoffe, lassen sich aus dem Harn im Voraus durch essigsaures Blei entfernen.

β) Salkowski [2]) hat dieses Verfahren in folgender Weise abgekürzt.

Es werden 50 ccm Harn in einem Becherglas mit 5 ccm Salzsäure (oder Essigsäure) angesäuert, mit Phosphorwolframsäure gefällt und alsdann auf dem Drahtnetz oder auf dem Wasserbad erwärmt, wobei sehr bald eine harzige Abscheidung erfolgt, welche sich entweder am Boden des Gefässes ablagert oder auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmt. Man giesst die Flüssigkeit vom Niederschlag ab oder filtriert ihn ab, wenn er nicht aneinanderhaftet, spült ihn zweimal mit Wasser ab und löst ihn in ungefähr 10 ccm 1%iger Natronlauge. Die anfangs tiefblaue Lösung macht beim weiteren Erwärmen einer graugelben Platz; einige Tropfen Lauge beschleunigen die Entfärbung. Mit dieser Lösung nimmt man die Biuretreaktion vor. — Enthält der Harn Eiweiss oder auch mucinähnliche Substanz, so müssen diese vor der Behandlung mit Phosphorwolframsäure entfernt werden. Ein Harn mit 0,02% Albumosen gibt bei Verwendung von 50 ccm eine starke Reaktion, ein solcher mit 0,015% noch eine deutliche, bei 0,01% ist sie jedoch zweifelhaft.

Aus urobilinreichen Harnen kann das Urobilin mit dem Phosphorwolframsäure-Niederschlag mechanisch ausgefällt werden und die Lösung gibt dann auch in Abwesenheit von Albumosen die Biuretreaktion. Eine Verwechslung des Urobilins mit den Albumosen ist aber nur dann zu fürchten, wenn der Harn direkt den Urobilinstreifen zeigt. Entfernung des Urobilins durch die Bleiacetate, durch Amylalkohol oder Kohle ist mit Verlust an Albumose verbunden. In solchem Falle stellt Salkowski die Probe nur mit 10—15 ccm Harn im Reagenzglas an; die Biuretreaktion ist dann zwar blass, aber von reinerer Färbung. Nach Cerny [3]) kann man das Urobilin ausschalten, indem man den Phosphorwolframsäureniederschlag mit Barythydrat im Überschuss zerlegt und dann anhaltend mit Luft schüttelt. Am günstigsten verlaufen die Versuche, wenn der Phosphorwolframsäureniederschlag mit verdünnter H_2SO_4 gewaschen wird vor der Zerlegung.

γ) Nach v. Aldor-Salkowski. 6—10 ccm Harn werden mit 1—2 Tropfen Salzsäure angesäuert und so lange mit 5 %iger Phosphorwolframsäure versetzt, als noch ein Niederschlag entsteht. Nach einigem Zentrifugieren erhält man einen konsistenten Niederschlag am Boden der Eprouvette; man giesst die Flüssigkeit ab, schüttelt den Niederschlag kräftig mit einigen ccm absolutem Alkohol, zentrifugiert wieder und setzt diese Manipulation so lange fort (2—3 mal), bis Alkohol und Sediment farblos bleiben. Man übergiesst mit Wasser, fügt konzentrierte Natronlauge hinzu, bringt die Blaufärbung durch Schütteln

[1]) Schulze und Barbieri a. a. O. 294.
[2]) Salkowski, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1894. 113; Berliner klin. Wochenschr. 34. 353. 1897.
[3]) Zdenko Cerny, Zeitschr. f. analyt. Ch. 40. 592. 1901.

Digitized by Google

mit Luft zum Verschwinden und fügt nun $CuSO_4$ hinzu. — Bei künstlichen Gemischen konnte durch diese Biuretreaktion noch 0,2 ‰ Albumosen nachgewiesen werden. Eiweissharne werden nach v. Áldor vorher mit Trichloressigsäure gefällt. Die durch Urobilin bedingte Fehlerquelle kann als beseitigt angesehen werden. Finigan[1]) hat diese Methode mit Erfolg benutzt. Er verwirft aber das Enteiweissen mit Trichloressigsäure, da hierbei auch Albumosen mitgerissen werden. Er enteiweisst, indem er nach Zusatz von Essigsäure und Sättigen mit Kochsalz in Substanz den Harn kocht und heiss filtriert.

Im Pferdeharn ist es wegen des in grosser Menge vorhandenen Mucins nötig, besondere Vorsichtsmassregeln zu ergreifen. Küthe benützt daher Bleiacetat zum Enteiweissen, nachdem er sich davon überzeugt hatte, dass weder primäre noch sekundäre Albumosen durch Bleiacetat in erheblichen Mengen niedergeschlagen werden. Küthe versetzt 20 ccm unfiltrierten Pferdeharn mit 10 Tropfen neutraler Bleiacetatlösung, wodurch der grösste Teil des Mucin entfernt wurde. Zum Filtrat wird dann konzentrierte Essigsäure gegeben, wodurch der Rest des Mucin niedergeschlagen wird. Es wird unter Beimischung von Kieselgur filtriert, aus dem Filtrat durch erneuten Zusatz von konzentrierter Essigsäure etwa noch vorhandenes Mucin völlig ausgefällt. Die so erhaltene mucin- und eiweissfreie Flüssigkeit wird nach v. Áldor weiterbehandelt. — Enteiweissen des Harns zum Albumosennachweis mit Bleiacetat empfiehlt auch Freund[2]).

Freund setzt bei Eiweissgehalt bis zu 0,1% 2 Tropfen einer 10%igen Bleizuckerlösung zu 10 ccm Harn. Bei höherem Eiweissgehalt säuert er zunächst mit 1 Tropfen 20%iger Essigsäure an, kocht und setzt dann, ohne zu filtrieren, 1 oder 2 Tropfen 20%ige Sodalösung zum Neutralisieren und dann 2—3 Tropfen Bleizuckerlösung hinzu. In dem enteiweissten Filtrat stellt er die Biuretprobe an. Empfindlichkeit angeblich 1 : 12 000.

Eine andere Vorschrift von Freund[3]) lautet: 10 ccm Harn werden mit 2—3 Tropfen 20%iger Essigsäure und 5 ccm 20%iger Bleiacetatlösung aufgekocht. Dem Filtrat wird KOH zugesetzt so lange noch ein Niederschlag entsteht, abermals aufgekocht und filtriert. Im Filtrat wird direkt mit $CuSO_4$ die Biuretreaktion angestellt. Kontrollversuche mit Witte-Pepton ergaben, dass nur geringe Mengen bei diesem Verfahren verloren gehen.

Ssadowen[4]) empfiehlt, um den störenden Einfluss der Harnpigmente (Urobilin) zu beseitigen, dieselben durch Oxydation mit Permanganat bei salzsaurer Reaktion zu zerstören, und erst dann den Albumosennachweis zu beginnen. Er will dann bei Verwendung der Methode von Salkowski 0,01% Albumosen in 25 ccm sicher nachweisen.

25—50 ccm eiweissfreier Harn werden im Becherglase bis nahe zum Sieden erhitzt, dann werden 2,5—5 ccm Salzsäure hinzugefügt und nun eine 3—5%ige Permanganatlösung hinzugegeben. Zunächst 2—10 ccm auf einmal, je nach der Farbe des Harns, dann vorsichtig und weniger; der Harn bekommt plötzlich eine

[1]) L. v. Áldor, Berliner klin. Wochenschr. 1899. 764 u. 785. — Finigan, Diss. Berlin 1901. (Beide Arbeiten aus dem Laboratorium von Salkowski.)
[2]) H. Küthe, Diss. Giessen 1908. — E. Freund, Wiener klin. Rundschau 1898. Nr. 8.
[3]) E. Freund, Zentralbl. f. inn. Med. **22**. 648. 1901.
[4]) A. Ssadowen, Russ. Archiv f. Pathol., klin. Med. u. Bakteriol. 5. 37. 1898; Jahresber. f. Tierch. **28**. 274. 1898; **29**. 322. 1899.

Digitized by Google

hellgelbe Farbe oder wird ganz farblos. Die Albumosen sollen hierbei nicht angegriffen werden.

b) Fällung mit Tannin nach Hofmeister.

Man fällt den (wenn erforderlich, nach S. 1125 durch Fällen mit Eisenchlorid vorbereiteten) Harn mit Tannin aus, bringt den Niederschlag nach 24stündigem Stehen auf ein kleines Filter und wäscht ihn mit Wasser, in welchem etwas Tannin und schwefelsaure Magnesia gelöst sind. Der Niederschlag wird darauf in einer Schale mit gesättigtem Barytwasser gut verrieben und nach Zusatz einiger Stücke Bariumhydrat einige Minuten im Sieden erhalten; wird der Niederschlag nicht schon in der Kälte möglichst vollständig im Barytwasser verteilt, so bäckt er in der Wärme leicht zu harzartigen Klumpen zusammen, welche vom Baryt dann nur langsam angegriffen werden. Nach dem Kochen filtriert man in einen Kolben, fügt noch etwas Barytwasser hinzu und schüttelt die dunkelbraune Flüssigkeit so lange kräftig, bis das Filtrat farblos oder nur schwach gelb erscheint. Mit dem Filtrat stellt man die Biuretprobe an; dazu kann man vorher den Baryt durch Neutralisieren mit Schwefelsäure ausfällen.

Neumeister[1]) trocknet den Tanninniederschlag im Exsiccator, zerreibt ihn und erwärmt ihn, wenn nötig mit dem Filter, mit dem Barytwasser und dem festen Baryt 3—5 Minuten auf dem siedenden Wasserbad.

c) Das Verfahren von Devoto beruht darauf, dass Albumin und Globulin beim Erhitzen in einer gesättigten Ammonsulfatlösung völlig unlöslich werden, ein Albumosenniederschlag sich aber im Wasser wieder löst. Es bietet vor den anderen Methoden den Vorteil, dass man Eiweiss und mucinähnliche Substanz nicht besonders zu entfernen braucht.

Es werden in 200—300 ccm Harn auf 100 ccm 75 g fein gepulvertes Ammonsulfat in gelinder Wärme und unter fleissigem Rühren gelöst. Man lässt die Flüssigkeit dann 20—40 Minuten in einem Dampftopf (einem bedeckten Topf) mit siedendem Wasser stehen. Man filtriert heiss, bringt den Niederschlag auf das Filter, übergiesst ihn portionsweise mit siedendem Wasser und fängt die einzelnen Filtrate in Reagenzgläsern auf. Die ersten Filtrate sind farblos, die späteren gefärbt; in der Regel ist aber Albumose schon in den nicht oder wenig gefärbten Filtraten nachweisbar. Man stellt die Biuretprobe in der Weise an, dass man die Filtrate mit viel konzentrierter Natronlauge mischt und mit verdünnter Kupfersulfatlösung überschichtet; nur bei einem so reichlichen Zusatz von Lauge, dass alles Ammoniumsulfat in Natriumsulfat übergeführt ist und noch freie Lauge vorhanden ist, tritt die Biuretfärbung auf, sonst nur eine Blaufärbung. — Wirft man in das Filtrat Ammonsulfat, so entsteht in der Umgebung des Salzes nach einiger Zeit eine Trübung; die Albumosen werden durch das Salz gefällt. — Pekelharing[2]) weist die Albumosen im Filtrat mittels der Xanthoproteinreaktion nach.

Man kann in mehreren Filtraten hintereinander die Albumosen nachweisen; es lassen sich noch 2 mg „Wittesches Pepton" mit aller Sicherheit auffinden. Nur bei bluthaltigem Harn versagt das Verfahren, weil das Hämoglobin nicht vollständig koaguliert wird.

Nach v. Jaksch geben beim Harn die Methoden von Hofmeister und von Devoto übereinstimmende Resultate. E. Robitschek hat unter v. Jaksch 25 Harne nach den Methoden von Hofmeister, Salkowski und Devoto untersucht und dabei 14 mal nach keinem Verfahren Albumosen gefunden, dagegen 5 mal nach jeder Methode, 5 mal Albumosen nach Hofmeister und nach Salkowski, aber nach Devoto keines und 1 mal bloss nach Salkowski, aber

[1]) R. Neumeister, Zeitschr. f. Biol. **30**. 459. 1894.

[2]) L. Devoto, Zeitschr. f. physiol. Ch. **15**. 465. 1891. — C. A. Pekelharing, Untersuchungen über das Fibrinferment, Amsterdam 1892. 46.

Digitized by Google

zweifelhaft. W. Robitschek[1]) hat unter 537 Beobachtungen in vier Fällen nach Hofmeister starke Reaktion erhalten, wo Devoto negativ ausfiel und in einem Falle nach Devoto starke Reaktion wahrgenommen, während die Probe nach Hofmeister zweifelhaft ausfiel; in den übrigen Fällen stimmten die Resultate bei Hofmeister und bei Devoto überein.

d) Verfahren von Bang[2]). Dasselbe beruht auf dem gleichen Prinzip, wie das von Devoto. Die Gefahr, dass durch das längere Sieden im Dampftopf nachträglich erst Albumosen entstehen, ist dabei vermieden. Auch das Urobilin ist dabei berücksichtigt. 10 ccm Harn werden mit 8 g Ammoniumsulfat zum Sieden erhitzt und dann einige Sekunden im Sieden erhalten. Die noch heisse Flüssigkeit wird in einer Handzentrifuge $^1/_2$—1 Minute zentrifugiert und dann von dem Bodensatz getrennt. Aus dem letzteren wird das Urobilin soweit als möglich durch Extraktion mit Alkohol und wiederholtes Zentrifugieren ausgezogen. Den dann ungelösten Rückstand schlemmt man in wenig Wasser auf, erhitzt zum Sieden, filtriert, wobei das koagulierte Eiweiss zurückbleibt, und entfernt aus dem Filtrate noch etwa vorhandenes Urobilin durch Ausschütteln mit Chloroform. Die wässerige Lösung wird nach dem Abpipettieren des Chloroform zur Biuretprobe benutzt.

Die Empfindlichkeitsgrenze liegt bei etwa 0,05 % Albumose im Harn. Bei Gegenwart von Hämatoporphyrin wird dieses erst mit $BaCl_2$ ausgefällt, das überschüssige $BaCl_2$ mit ein wenig Ammoniumsulfat ausgefällt und dann das Filtrat wie oben benutzt.

e) Schultess bediente sich zur Abscheidung der Albumosen, wie ehemals Gerhardt[3]), der Fällung mit Alkohol.

Von Haus aus eiweissfreier Harn wurde filtriert und in der Absicht, die mucinähnliche Substanz zu fällen, vorsichtig mit Essigsäure versetzt. Von dem Filtrat wurden 25—30 ccm mit dem 6fachen Volumen absolutem Alkohol vermischt, der Niederschlag nach 12—24 Stunden abfiltriert, in warmem Wasser gelöst, das Filtrat mit sehr verdünnter Essigsäure auf mucinähnliche Substanz untersucht und schliesslich zur Biuretprobe verwandt. Das Resultat wurde durch die Tanninprobe oder nach Salkowski nachgeprüft.

Krehl und Matthes[4]) verarbeiteten die Lösung in der Weise weiter, dass sie dieselbe bei schwach saurer Reaktion in der Siedehitze mit Ammonsulfat sättigten, den dabei entstandenen Niederschlag in heissem Wasser lösten, die Schwefelsäure mit Bariumhydrat ausfällten und das Filtrat, wenn es klar war, zur Vertreibung des Ammoniak eindampften. War danach noch Schwefelsäure oder Baryt in Lösung, so wurden diese gefällt und mit der nur wenig Kubikzentimeter betragenden Flüssigkeit die Biuretprobe angestellt, oder sie wurde vorher noch in das 8fache Volumen Alkohol eingetragen und der Niederschlag über Schwefelsäure im Luftstrom getrocknet.

[1]) v. Jaksch, Zeitschr. f. physiol. Ch. **16**. 243. 1891. — E. Robitschek, Prager med. Wochenschr. 11. 1896. 116. — W. Robitschek, Zeitschr. f. klin. Med. **24**. 556.

[2]) J. Bang, Skandinav. Archiv. f. Physiol. 8. 272. 1898.

[3]) E. Schultess, Archiv f. klin. Med. **58**. 330. 1897. — C. Gerhardt, Archiv f. klin. Med. **5**. 214. 1868.

[4]) L. Krehl und M. Matthes, Archiv f. klin. Med. **54**. 505.

Digitized by Google

4. Zur Auffindung des von ihnen als histonähnlich bezeichneten Körpers (s. bei Histon), der aber doch wohl eine Albumose gewesen ist, gelangten Krehl und Matthes[1]) in folgender Weise.

Bei der Verarbeitung des nach 3. e) erhaltenen Alkoholniederschlages kam es vor, dass das Bariumsulfat immer wieder durch das Filter ging, und dass, wenn endlich nach tagelangem Filtrieren ein klares Filtrat erhalten worden war, dieses die Biuretreaktion nicht mehr gab. Durch Wasser oder durch verdünntes Ammoniak konnte dem Niederschlag die Eiweisssubstanz nicht entzogen werden, wohl aber durch verdünnte Salzsäure, und aus dieser Lösung konnte der die Biuretreaktion gebende Eiweisskörper wieder durch Ammoniak und Baryt gefällt werden.

Kolisch und Burian[2]) wuschen den Alkoholniederschlag aus dem eiweissfreien oder enteiweissten Harn mit heissem Alkohol, lösten ihn in heissem Wasser und säuerten die Lösung nach dem Erkalten mit Salzsäure an. Nach mehrstündigem Stehen wurde der grösstenteils aus Harnsäure bestehende Niederschlag abfiltriert und das Filtrat mit Ammoniak versetzt, wobei neben Mineralbestandteilen das Histon ausfällt. Der Niederschlag wurde so lange mit ammoniakalischem Wasser gewaschen, bis das Filtrat keine Biuretreaktion mehr gab, und der Niederschlag in Essigsäure gelöst. Mit dieser Lösung wurde die Biuretreaktion erhalten; sie gab ferner beim Kochen einen Niederschlag, welcher sich in Mineralsäure auflöste.

5. Das Verfahren von Morawitz und Dietschy[3]). Dasselbe ist zwar umständlich und zeitraubender, vermeidet aber eine Anzahl von Gefahren, die den anderen bisher aufgeführten Methoden anhaften (S. 1126).

500 ccm Harn werden unter Toluol gesammelt und möglichst frisch verarbeitet. Der Harn wird mit saurem phosphorsaurem Kali schwach angesäuert und mit dem doppelten Volum 96%igen Alkohol im Wasserbade 5—6 Stunden am Rückflusskühler gekocht, wobei die Temperatur im Inneren des Kolbens nicht über 80—90° steigen darf. Das Wasserbad darf nicht bis zum Sieden erhitzt werden. Nach dem Erkalten wird abfiltriert, das klare Filtrat auf dem Sandbad bei 50—60° abgedampft, bis der Alkohol vertrieben ist. Man engt zweckmässig auf 300 ccm ein. Der Harn wird dann mit Zinksulfat in Substanz gesättigt. Der Flüssigkeit werden nach der Angabe von Zunz auf 100 ccm Harn 2 ccm verdünnte Schwefelsäure zugesetzt und die Lösung des Zinks durch gelindes Erwärmen befördert. Es wird dann filtriert, der Niederschlag zur Entfernung des Urobilins 24 Stunden mit wasserfreiem Alkohol, der nach Bedarf mehrmals gewechselt wird, extrahiert. Mit dem Wasserextrakt des Niederschlages wird dann die Biuretreaktion angestellt.

Die Art des Enteiweissens gibt keine Veranlassung zur sekundären Entstehung von Albumosen, denn bei eiweisshaltigen Harnen war häufig der Albumosenbefund negativ. Andererseits ist die Enteiweissung vollständig. Die Methode der Alkoholkoagulation gibt keinen

[1]) Krehl und Matthes, a. a. O. 508.
[2]) R. Kolisch und R. Burian, Zeitschr. f. klin. Med. 29. 377 1896.
[3]) P. Morawitz und R. Dietschy, Archiv f. exper. Pathol. u. Pharm. 54. 92. 1906. — R. Dietschy, Diss. Basel 1906. — E. Zunz, Zeitschr. f. physiol. Ch. 27. 219. 189.

Digitized by Google

Anlass zu Verlusten an Albumosen, denn aus dem Koagulum liessen sich keine Biuretreaktion gebende Substanzen ausziehen. Sekundäre Albumosen lassen sich, wenn man von 500 ccm Harn ausgeht, in Verdünnung 1:5000—10000 nachweisen. Auch für zugesetztes Wittepepton liegen die Grenzen ungefähr ebenso.

6. Methode zum Nachweis von echtem Pepton (im Sinne Kühnes) von Ito-Rostoski [1]). 300 ccm filtrierter saurer Harn werden auf dem Wasserbad bei einer Temperatur von 60—70° mit Ammoniumsulfat gesättigt, nach dem Erkalten abfiltriert, das Filtrat alkalisch gemacht mit verdünnter Lösung von Natriumcarbonat, bei 60—70° abermals gesättigt und wieder nach dem Abkühlen filtriert, das Filtrat durch stark verdünnte Essigsäure neutralisiert und bei 40—50° von neuem mit Ammoniumsulfat gesättigt, und schliesslich nach dem Erkalten nochmals filtriert. In dem Filtrat wurde nicht direkt die Biuretreaktion angestellt, wie das frühere Untersucher mit negativem Erfolg taten, sondern das etwa vorhandene Pepton zuerst ausgefällt. Hierzu wird das letzte Filtrat mit der gleichen Menge destilliertem Wasser verdünnt und dann bei neutraler Reaktion tropfenweise unter sorgfältigem Vermeiden eines Überschusses frisch bereitete Tanninlösung zugesetzt. Der Niederschlag wird am nächsten Tag abfiltriert, auf dem Filter im Exsiccator getrocknet, im Mörser zerrieben und eventuell samt dem Filter in einem kleinen Porzellantiegel mit etwas Barytwasser übergossen und unter Zusatz von etwas feingepulvertem Baryt 3 Minuten aufs kochende Wasserbad gestellt. Nach 1—2 Stunden wird abfiltriert und nun entweder gleich, oder wenn das Filtrat stark gefärbt war, nach seiner Entfärbung mit etwas neutralem Bleiacetat die Biuretreaktion angestellt.

Bei Zusatz von 0,3% Pepton zu Harn war die Probe positiv.

Als absolut sicheren Beweis für die Gegenwart von Pepton kann man den positiven Ausfall der Biuretreaktion wohl noch nicht ansehen. Es wäre notwendig, das Pepton in dieser Lösung noch anderweitig zu charakterisieren.

D. Bestimmung der Harnalbumosen.

1. Nach Maixner. Maixner bediente sich dazu der kolorimetrischen Methode von Hofmeister [2]). Die Harnalbumosen wurden mit Salzsäure und Phosphorwolframsäure aus dem Harn ausgeschieden und mit Bariumhydrat oder kohlensaurem Natron wieder in Freiheit gesetzt. Mit der Lösung wurde eine Biuretprobe angestellt und mit der Färbung derselben die einer anderen Biuretprobe verglichen, zu welcher eine bestimmte Menge Albumosen verwendet worden war.

Von der auf ein bestimmtes Volumen gebrachten Lösung der Harnalbumosen werden 20 ccm in einen Glastrog mit planparallelen Wänden gemessen, mit schwacher Natronlauge und soviel Kupfersalz versetzt (Acetat, wenn die Lösung Baryt enthält), dass eine möglichst deutliche Biuretfärbung entsteht; die hinzugefügten Reagenzlösungen werden gemessen und den 20 ccm Lösung hinzugezählt. Dann erteilt man einer Albumosenlösung von bekanntem Gehalt (ungefähr $1^0{}_0$ig) in gleicher Weise eine starke Biuretfärbung. Aus dem Gehalt und dem verwendeten Volumen der reinen Albumosenlösung und dem Volumen der Zusätze wird der Gehalt der gefärbten Albumosenlösung berechnet. Diese Lösung dient zur Her-

[1]) Midori Ito, Deutsches Archiv f. klin. Med. **71**. 33. 1901. — Rostoski, Verhandl. d. physik.-med. Gesellsch. in Würzburg 1901.

[2]) E. Maixner, Zeitschr. f. klin. Med. **11**. 344. 1886. — F. Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Ch. **5**. 135; **6**. 57.

Digitized by Google

stellung der Vergleichsprobe; da die Harnalbumosenlösung gelb ist, das Wasser, welches zur Vergleichsprobe verwendet wird, aber nicht, so würden die Biuretproben der beiden Flüssigkeiten einen ungleichen Farbenton besitzen. Man färbt daher das Wasser der Vergleichsprobe durch einige Tropfen Harn ebenso gelb, wie die Harnpeptonlösung; dieser Harn wird vorher zur Fällung der Phosphorsäure mit kohlensaurem Natron versetzt und filtriert. Von der gefärbten Albumosenlösung mischt man dann in einem zweiten, gleichweiten Glastrog abgemessene Mengen mit 20 ccm des gefärbten Wassers, bis die Biuretfärbung in dieser Probe ebenso stark ist, wie in der mit dem Harnpepton. Es enthalten dann gleiche Volumina der beiden Proben gleichviel Albumosen, und da die Gesamtvolumina der Flüssigkeit in beiden Proben, sowie die absolute Menge der Albumosen in der Vergleichsprobe bekannt sind, so lässt sich der Gehalt der Harnalbumosenlösung und somit auch der Gehalt des Harns an Albumosen berechnen. Den Gehalt der reinen Albumosenlösung an Albumosen hat Maixner durch Polarisation nach $[\alpha]_D = -63{,}5^0$ (s. Seite 1206) bestimmt. Bei Versuchen mit wässerigen Albumosenlösungen fand Maixner immer etwas weniger Albumosen wieder, als er zu den Versuchen genommen hatte. Das Verfahren gestattete wegen dieses Verlustes und auch deshalb nur eine ungefähre Bestimmung der Albumosen, weil die Harnalbumose nicht die von Maixner der Bestimmung zugrunde gelegte spezifische Drehung zu haben braucht.

2. Nach Dutto[1]). Die Albumosen werden durch einen Überschuss von Jodwismutkalium gefällt, der Niederschlag nach 12—24 Stunden mit Wasser gewaschen, welches mit Schwefelsäure schwach angesäuert ist, und im Vakuum getrocknet. Im Niederschlag bestimmt man die Menge des Wismuts als Oxyd oder besser als Metall. 1 g metallisches Wismut entspricht 6,8—7,1 g Albumosen.

V. Hämoglobin.

A. Vorkommen. Hämoglobin kommt im Harn in zweierlei Formen vor, in den Blutkörperchen eingeschlossen (Hämaturie) oder in freiem Zustande im Harn gelöst (Hämoglobinurie).

Hämaturie kommt zustande dadurch, dass in den Nieren oder in den weiteren Harnwegen Blutungen stattfinden oder dass wie bei der Menstruation dem Harn Blut beigemischt wird, welches nicht aus den Harnwegen stammt. Der Farbstoff kann nachträglich aus den Blutkörperchen ausgelaugt werden, wenn der Harn globulizide Eigenschaften hat (Camus)[2]). Es ist dann aber durch die mikroskopische Untersuchung feststellbar, dass „Schatten" von Blutkörperchen vorhanden sind. Wenn keine nachträgliche Hämolyse eingetreten ist, dann erweist die mikroskopische Untersuchung die Gegenwart von Erythrocyten. Ausserdem kann gelöster Blutfarbstoff in den Harn übertreten (Hämoglobinurie), wenn im Blute gelöster Blutfarbstoff vorhanden ist. Die Veranlassung zur „Hämoglobinämie" bzw. Hämoglobinurie geben entweder von aussen eingebrachte „Blutgifte", z. B. Arsenwasserstoff, ferner zahlreiche Gifte bakteriellen Ursprungs bei Infektionskrankheiten, ferner hämolytisch wirkende Stoffe (Hämolysine), die bei Bluttransfusionen mit artfremdem Blut eingeführt werden. Endlich können im Körper selbst entstehende und abnormerweise ins Blut gelangende Stoffe, wie Gallensäuren und nicht näher bekannte hämolytisch wirkende Stoffe, die bei Erfrierungen, Verbrennungen, starker Abkühlung und Überwärmung entstehen, Anlass zu Hämoglobinurie geben. Hierher gehören auch gewisse Krank-

[1]) Dutto, Deutsche Med. Ztg.; Chem. Zentralbl. 1894. 2. 1022.
[2]) Jean Camus, Die Hämoglobinurien. Thèse de Paris 1903. 123.

Digitized by Google

heitszustände, die als „paroxysmale Hämoglobinurie", als „epidemische Hämoglobinurie der Kinder", als „schwarze Harnwinde der Pferde" bekannt sind.

B. Eigenschaften. Das Hämoglobin, die Verbindung eines Eiweisskörpers mit Hämatin, besitzt in den wesentlichen Stücken die Eigenschaften des Albumins, welche aber durch die Gegenwart des Hämatins in der Verbindung in chemischer und optischer Hinsicht einen Zuwachs erhalten haben. Es geht mit Sauerstoff eine molekulare Verbindung ein (Sauerstoff-Hämoglobin). Das im Harn vorkommende Hämoglobin ist das sauerstoffhaltige. Der im Hämoglobin mit Hämatin verbundene Eiweisskörper (Globin) wird durch Spuren freier Säure in salzarmen Lösungen frei gemacht. Das Globin ist ein histonähnlicher Eiweissstoff (Schulz)[1]).

1. Beide Hämoglobine, das sauerstofffreie „Hämoglobin", sowie das sauerstoffhaltige „Oxyhämoglobin" sind krystallisationsfähig. Die Krystalle des Sauerstoff-Hämoglobins sind scharlachrot, die des Hämoglobins violettrot, im durchfallenden Lichte grün. Sie lösen sich beide in Wasser und schwachen Salzlösungen. Das Hämoglobin ist viel leichter löslich, wie das Oxyhämoglobin, daher schwer krystallisierbar. Bei längerem Verweilen des krystallisierten Hämoglobins unter Alkohol wird es in Wasser unlöslich (Parahämoglobin). Im Vakuum, beim Behandeln mit indifferenten Gasen (Wasserstoff, Stickstoff, Stickoxyd, Kohlensäure), sowie bei der Einwirkung gewisser reduzierender Substanzen, wie Schwefelammon, alkalische Ferro- oder Stannotartratlösung (Stokes), Natriumhydrosulfit (Schützenberger), Hydroxylamin und Hydrazin (Curtius, Hüfner) wird dem Sauerstoff-Hämoglobin der Sauerstoff entzogen, ebenso bei der Fäulnis; in Berührung mit atmosphärischem Sauerstoff nimmt das reduzierte Hämoglobin sehr leicht wieder Sauerstoff auf. Unter der Einwirkung der verschiedenartigsten Substanzen, welche Dittrich[2]) aufzählt, geht das Hämoglobin in das Methämoglobin über. Es handelt sich sowohl um oxydierende als auch um reduzierende Substanzen. Auch die β-Strahlen des Radium wirken in dieser Weise. Am gebräuchlichsten zur künstlichen Erzeugung von Methämoglobin ist die Reaktion mit Ferricyankalium, bei welcher zunächst der gesamte locker gebundene Sauerstoff in Freiheit gesetzt wird (Haldane)[3]). Bei der sich daran anschliessenden Methämoglobinbildung werden dann zwei Sauerstoffatome (Haldane) oder zwei Hydroxylgruppen (Hüfner, v. Zeynek)[4]) in feste Bindung aufgenommen.

[1]) Fr. N. Schulz, Zeitschr. f. physiol. Ch. **24**. 449. 1898.

[2]) Curtius, Journ. f. prakt. Ch. [2] **39**. 27. 1889. — Hüfner, Du Bois' Archiv 1894. 156. — P. Dittrich, Archiv f. exper. Pathol. **29**. 247. 1891.

[3]) J. Haldane, Journ. of physiol. **22**. 298. 1898 und **25**. 295. 1900.

[4]) R. v. Zeynek, Archiv f. Physiol. (Engelmann) 1899. 460. — G. Hüfner, Ebenda 491.

Digitized by Google

2. Konzentrierte Lösungen des Sauerstoff-Hämoglobins (Oxyhämoglobin) sind dunkelrot, aber durchsichtig (lackfarben, im Gegensatz zum deckfarbenen Blute), verdünnte gelblichrot; die Färbung ist auch bei starker Verdünnung noch wahrnehmbar. Bei genügender Verdünnung zeigen die Lösungen vor dem Spektralapparat zwei Absorptionsstreifen, einen schmäleren und dunkleren, α, der links an D grenzt, und einen breiten und weniger dunklen, β, rechts E um ein Geringes überschreitend. Die Ränder beider Streifen sind rechts stärker als links verwaschen (Tafel I, Spektr. 1 a).

Lösungen des sauerstofffreien Hämoglobins sind, wie seine Krystalle, in auffallendem Licht violettrot, in durchfallendem grünlich. Sie zeigen bei etwas stärkerer Konzentration, wie die Lösungen des Sauerstoffhämoglobins, einen breiten Absorptionsstreifen, γ, zwischen D und E, der D etwas überschreiten kann, E nicht erreicht und an der linken Seite stärker verwaschen ist als an der rechten; die dunkelste Stelle desselben nimmt nahezu den Ort ein, an welchem die beiden Streifen des Sauerstoffhämoglobins getrennt sind (Spektrum 1 b). Dieses Spektrum ist schwächer als das des Sauerstoffhämoglobins.

Der Streifen α des Sauerstoff-Hämoglobins ist in 1 cm dicker Schicht gerade noch sichtbar, wenn die Lösung 0,015 g Hämoglobin in 100 ccm enthält, der Streifen β wird erst sichtbar, wenn die Lösung 0,04 g Hämoglobin in 100 ccm enthält. Verstärkt man die Konzentration der Lösung allmählich, so werden die beiden Streifen des O_2-Hämoglobins immer dunkler, aber auch immer breiter, so dass sie endlich zu einem zusammenfliessen.

Den Streifen γ des sauerstofffreien Hämoglobins erhält man am einfachsten, wenn man einer Sauerstoff-Hämoglobinlösung, welche ihre Streifen recht kräftig zeigt, Schwefelammon hinzumischt. Der Streifen γ tritt dann nach einiger Zeit auf; zugleich erscheint dann bei genügender Konzentration im Rot zwischen C und D noch ein zweiter, sehr schmaler und sehr schwacher Streifen (δ), welcher mit dem eigentlichen Spektrum des Hämoglobins nichts zu tun hat, sondern einer spezifischen Wirkung des Schwefelammons auf das Hämoglobin seinen Ursprung verdankt (Sulfhämoglobin).

Nach den photometrischen Bestimmungen von Vierordt[1]) nimmt die Lichtabsorption im Spektrum des Sauerstoff-Hämoglobins von A—D zu, erreicht bei einer gewissen Verdünnung der Lösung in D—D 19 E, dem Ort des Streifens α, das erste Maximum, nimmt dann von D 19 E bis D 54 E wieder etwas ab, worauf in D 54 E—D 87 E, dem Ort des Streifens β, das zweite Absorptionsmaximum folgt. Dann sinkt die Absorption erheblich und erreicht in E 45 E—E 63 F ein drittes Minimum, steigt darauf wieder und nimmt gegen das violette Ende schnell zu. — Die zwei direkt sichtbaren Streifen des Oxyhämoglobin besitzen ein Maximum der Absorption bei λ 579 und 542 μμ, sie sollen bei 10 mm dicker Schicht, photographisch bis 1 : 14700, vom geübten Auge bis 1 : 10000 Verdünnung erkennbar sein. Der dritte Streifen im Violett (Soret's Band) mit dem Maximum bis λ = 415 μμ ist sogar bis 1 : 40000 photographisch nachweisbar.

Im Spektrum des reduzierten Hämoglobins nimmt die Lichtstärke von C 65 D—D sehr schnell ab, die Absorption ist am stärksten zwischen D 19 E und

[1]) Vierordt, Die Anwendung des Spektralapparates zur Photometrie etc. Tübingen 1873. 110 u. 126. Die quantitative Spektralanalyse etc. Tübingen. 1876. 55.

Digitized by Google

D 54 E (Streifen γ), etwas geringer zwischen D 54 E und D 87 E; dann steigt die Lichtstärke wieder beträchtlich bis E 45 F, erreicht zwischen diesem Ort und E 63 F ein Maximum der Helligkeit, nimmt dann wieder ab und erreicht ein weiteres Maximum der Helligkeit zwischen F und F 10 G. Dann nimmt die Absorption nach G hin ab. — Das Maximum der Absorption liegt bei $\lambda = 559\ \mu\mu$.

3. Aus seiner wässerigen Lösung wird das Oxyhämoglobin gefällt durch Schütteln der Lösung mit Natriumcarbonat (Hoppe-Seyler), vollständig durch Sättigen derselben mit Ammonsulfat; die untere Grenze liegt bei 65 Vol. % Sättigung, die obere erst nahe bei der vollständigen Sättigung (Schulz). Durch Kochsalz und Magnesiumsulfat wird Oxyhämoglobin bei neutraler Reaktion nicht ausgesalzen. Nach Kraus[1]) gelingt die Fällung auch durch Zusatz von 4 Vol. mit etwas Baryt versetzter Kaliumacetatlösung oder von 4 Vol. einer mit Kaliumacetat gesättigten Mischung von 1 Vol. Wasser mit 0,25—0,375 Vol. starkem Alkohol auf 1 Vol. Oxyhämoglobinlösung (Blut).

4. Das Oxyhämoglobin wird nicht durch alle Metallsalze gefällt, nicht durch Silbernitrat, die Bleiacetate, Quecksilberchlorid, Eisenchlorid; dagegen wird es niedergeschlagen durch Kupfersulfat, Chlorzink, Zinkacetat im Überschuss, durch salpetersaures Quecksilberoxyd und Quecksilberoxydul, Bleiessig und Ammoniak, Eisenchlorid und (wenig) Ammoniak. Bei Gegenwart von zinkfällenden Salzen (Phosphaten, Carbonaten) geht das Oxyhämoglobin leicht in den Zinkniederschlag ein, durch essigsaures Eisenoxyd, sowie durch Bleioxyd kann eine Oxyhämoglobinlösung wie eine Albuminlösung (S. 1125) völlig vom Oxyhämoglobin befreit werden.

Als Salze, welche das Oxyhämoglobin nicht fällen, führt Jutt[2]) an Manganosulfat, Ferrosulfat, Thalliumcarbonat, Kaliumchromat, Natriumwolframiat. Nach C. G. Lehmann gibt das Oxyhämoglobin mit Kaliumdichromat einen reichlichen Niederschlag. Eine mit Bleizucker versetzte Oxyhämoglobinlösung trübt sich nach einiger Zeit, eine mit Bleiessig versetzte Lösung zeigt die Trübung sogleich, vielleicht von beigemengtem Methämoglobin.

5. Phosphorwolframsäure, Gerbsäure, Jodquecksilberkalium, Natriumwolframiat etc. fällen das Oxyhämoglobin in saurer Lösung wie Eiweiss.

6. Erwärmt man eine wässerige Oxyhämoglobinlösung, so tritt in derselben schon unterhalb der Siedetemperatur ein brauner Niederschlag (von koaguliertem Eiweiss und Hämatin) auf. Die Koagulationstemperatur beträgt 64° (Preyer[3]); jedoch tritt schon bei längerem Erwärmen auf 54° Koagulation ein. Die Koagulation des Oxyhämoglobins erfolgt unter denselben Bedingungen, wie die des Albumins (s. dort).

[1]) Fr. N. Schulz l. c. 449. — Fr. Kraus, Archiv f. exper. Pathol. **26.** 197. 1890.
[2]) J. Jutt, Pharm. Post **30.** 185; Chem. Zentralbl. **1897. 1.** 1031.
[3]) W. Preyer, Pflügers Archiv **1.** 395. 1868.

Digitized by Google

doch scheidet sich das Koagulum in Abwesenheit von Neutralsalz nicht vollkommen ab. Auch wird das Oxyhämoglobin beim Erhitzen in einer mit Ammonsulfat gesättigten Lösung nach Devoto nicht vollständig unlöslich.

7. Durch Alkohol wird das Oxyhämoglobin nur langsam denaturiert. Aber schon vor vollständiger Denaturierung (Koagulation) beeinflusst Alkohol das O-Bindungsvermögen und auch die Eisenbindung.

8. Alkalihydrate, alkalisch reagierende Salze, sowie Säuren zerlegen das Hämoglobin in Eiweiss (Globin) und Hämatin.

Wie auf die Globuline, wirken auch auf das Oxyhämoglobin Alkalihydrate oder alkalisch reagierende Salze in verdünnter Lösung mit geringerer Energie zersetzend ein, als verdünnte Säuren. Bei diesen Zersetzungen bleiben die Produkte in Lösung oder erscheinen als Niederschläge, wenn die Verhältnisse derart sind, dass eine Albuminlösung bei der Einwirkung der Basen oder Säuren eine Lösung oder einen Niederschlag bilden würde. Konzentrierte Mineralsäuren geben z. B. Niederschläge von Acidalbumin; Neutralsalze und Säuren zusammen fällen das Hämoglobin in der Wärme vollständig, wie das Albumin. Lösungen und Niederschläge des zersetzten Hämoglobins unterscheiden sich aber durch ihre Färbung von den analogen (ungefärbten) Produkten des Albumins.

Bei Einwirkung von sehr geringen Mengen Säure entsteht nicht Acidalbumin, sondern „Globin" (Schulz, Lawrow)[1]. Versetzt man eine salzfreie Hämoglobinlösung mit ganz wenig Säure und schüttelt dann mit Äther unter Zusatz von wenig Alkohol, so geht das Hämatin in den Äther, während das Globin in der wässerig-alkoholischen Flüssigkeit bleibt. Aus dieser Lösung ist es fällbar durch Ammoniak. Das Globin ist ein histonähnlicher Eiweissstoff.

9. Erwärmt man auch nur eine Spur Oxyhämoglobin mit Eisessig und einer Spur Kochsalz, so krystallisiert Chlorhämatin (Hämin) in dunkelbraunen, rhombischen Täfelchen aus (Formel $C_{34}H_{33}N_4FeClO_4$).

Wird eine wässerige Oxyhämoglobinlösung mit einer konzentrierten, wässerigen Phenollösung erwärmt, so erfolgt nach Kramm[2]) Zerlegung in Hämatin ($C_{34}H_{34}N_4FeO_5$) und Eiweiss; das Hämatin findet sich in der (unteren) Phenolschicht.

10. Das Oxyhämoglobin wirkt ebensowenig wie die anderen Blutfarbstoffe direkt oxydierend auf Guajaktinktur. Dagegen hat es wie alle eisenhaltigen Blutfarbstoffe die Fähigkeit, als Katalysator („Ozonüberträger") bei gleichzeitiger Anwesenheit von peroxydhaltigen Reagentien, wie Terpentinöl, Guajaktinktur zu bläuen.

C. Nachweis. Für den chemischen Nachweis des Oxyhämoglobins überhaupt ist es gleichgültig, ob der Harn Blutkörperchen enthält oder nicht; den Nachweis von gelöstem Oxyhämoglobin kann man nur in negativer Weise so führen, dass man sich von der Abwesenheit der Blutkörperchen überzeugt (vgl. Sedimente). Bluthaltiger Harn ist trüb und besitzt eine mehr oder minder ausgesprochene blutrote Färbung.

---

[1]) Fr. N. Schulz, Zeitschr. f. physiol. Ch. **24**. 449. 1897. — D. Lawrow, Ebenda **26**. 343. 1908.

[2]) W. Kramm, Deutsche med. Wochenschr. 3. 1896 45.

Digitized by Google

Die Farbe von Harn, welcher gelöstes Oxyhämoglobin enthält, kann zwischen rot und schwarz schwanken, er kann durchsichtig oder, wegen reichen Gehalts an Farbstoff, undurchsichtig sein.

Für den Nachweis des Oxyhämoglobins als solchen ist nur die spektroskopische Untersuchung ausschlaggebend; die übrigen Reaktionen werden auch vom Methämoglobin erhalten.

1. a) Man giesst eine Probe des Harns — wenn er stark alkalisch war, nach schwachem Ansäuern mit Essigsäure — in ein Glasgefäss (Reagenzglas, Becherglas, Glaskästchen mit parallelen Wänden) und bringt dieses vor den weit geöffneten Spalt eines Spektralapparats, in welchen man helles Tageslicht oder das Licht einer stark leuchtenden Gas- oder Petroleumlampe fallen lässt und beobachtet die Gegend von D bis E. Ist das Gesichtsfeld wegen zu starken Hämoglobingehalts der Lösung zu dunkel, so verdünnt man die Flüssigkeit allmählich mit Wasser; ist Oxyhämoglobin vorhanden, so treten endlich die Absorptionsstreifen α und β (B. 2) allmählich mehr oder minder deutlich hervor; enthält der Harn dagegen kein Oxyhämoglobin, so hellt sich das Spektrum in Gelb und Grün immer mehr auf, ohne dass dunkle Streifen sichtbar werden. Enthält der Harn viel anderen Farbstoff, so muss er zur Aufhellung des Spektrums stark verdünnt werden und dabei kann die Verdünnung leicht so weit gehen, dass das Oxyhämoglobinspektrum gar nicht gesehen werden kann.

Neben dem Oxyhämoglobinspektrum oder statt dessen kann der in Rot liegende Streifen des Methämoglobins (s. dort) zugegen sein. — Eine Verwechslung des Oxyhämoglobinspektrums ist bei Verwendung einfacher Spektralapparate, welche keine genaue Bestimmung der Lage der Absorptionsbänder gestatten, möglich mit dem alkalischen und namentlich dem metallischen Spektrum des Hämatoporphyrins (Tafel II, Spektrum 5 b und 5 d), welche direkt am Harn beobachtet worden sind. Vor einer solchen Verwechslung kann man sich schützen durch Überführung des Sauerstoff-Hämoglobins in sauerstofffreies mittels Schwefelammon nach B. 1 oder in Hämochromogen nach C. 1 b.

Über geeignete Spektralapparate siehe vorher.

Man hat sich vor einer unvorsichtigen Verdünnung des Harns in acht zu nehmen, weil man durch einen zu starken Wasserzusatz leicht über die Grenze hinausgelangt, innerhalb welcher die Streifen noch wahrgenommen werden; bei Gegenwart von nur wenig Hämoglobin kann auch bloss der Streifen α sichtbar sein. Störende Farbstoffe (Urobilin, Gallenfarbstoff) lassen sich aus dem Harn durch Fällen mit basisch essigsaurem Blei entfernen, wobei das Hämoglobin in Lösung bleibt, aber Methämoglobin gleichfalls niedergeschlagen wird; doch darf man die Fällung nur in von Haus aus klarem oder in filtriertem Harn vornehmen, weil etwa vorhandene Blutkörperchen mitgefällt werden würden. Umgekehrt kann man die Dicke der vom Licht durchwanderten Schicht vergrössern, wenn die Orte der Absorptionsstreifen keine Verdunkelung aufweisen. Übrigens lassen

Digitized by Google

sich nach Vierordt[1]) auch dann, wenn nicht die geringste Andeutung von Absorptionsbändern vorhanden ist, Spuren von Sauerstoff-Hämoglobin noch an der sehr merklich stärkeren Absorption zwischen D 7 E und D 15 E, sowie zwischen D 64 E und D 87 E, sowie Spuren von reduziertem Hämoglobin an der Absorption in D 19 E bis D 54 E erkennen.

Harne mit nicht zu starker Eigenfarbe lassen sich sehr wohl in einer Schicht von 10—20 cm Dicke spektroskopieren, so dass man sie vorteilhaft in Polarisationsröhren einfüllt und diese mit der Längsrichtung vor den Spalt des Spektroskops legt. In 20 cm dicker Schicht lässt sich noch ein Blutgehalt von 0,005% (2 Tropfen Blut auf die Tagesmenge Harn) erkennen. (Schumm)[2]).

Trüben Harn hat man vor der Untersuchung zu filtrieren. Ist der Filterrückstand rot, so kann er Blutkörperchen enthalten; man stellt dann aus dem Rückstand durch Behandeln desselben mit Wasser eine Lösung her, welche sich zur spektroskopischen Untersuchung noch besser eignet, als der Harn selbst.

Nach Camus[3]) verändert längeres Einwirken des Harns auf Hämoglobin die Eigenschaften des Hämoglobins so, dass eine leichte Hämoglobinurie spektroskopisch verkannt werden kann. Eine Eisenbestimmung im Harn soll dann als Ersatz eintreten.

b) Ist das Spektrum des Sauerstoff-Hämoglobins schwach oder nicht sichtbar, so empfehlen Lewin und Posner, sowie Linossier[4]) so zu verfahren, dass etwa vorhandenes Hämoglobin in reduziertes Hämatin (Hämochromogen) übergeführt wird, dessen Spektrum stärker ist als das des Hämoglobins.

Man reduziert zunächst das Sauerstoff-Hämoglobin. Linossier schlägt dazu vor, der Probe einen Tropfen der Lösung eines hydroschwefligsauren Salzes zuzusetzen; dieses auch käufliche Salz erhält man leicht, wenn man Zink auf saures schwefligsaures Natron einwirken lässt, jedoch nur kurze Zeit, da eine starke Lösung des Salzes das Hämoglobin fällt. Statt des Hydrosulfits kann man sich auch einer Schwefelammonlösung bedienen, die Reduktion verläuft dann aber langsamer. Das Spektrum des reduzierten Hämoglobins ist schwächer, als das des Sauerstoff-Hämoglobins; es kann also geschehen, dass das vorher noch sichtbare Spektrum verschwindet. Fügt man der Flüssigkeit dann einige Tropfen konzentrierte Natronlauge zu, so kommt das Spektrum des Hämochromogens (Taf. III. 3. Spektrum 3) zum Vorschein, in welchem der Streifen α der dunklere ist; dieser liegt zwischen α und β des Spektrums des Sauerstoff-Hämoglobins. Das Spektrum verschwindet beim Erwärmen auf 50° und kehrt beim Erkalten wieder. — Verwendet man statt Schwefelammon und Natronlauge nacheinander sogleich eine überschüssiges Alkalihydrat enthaltende Schwefelkalium- oder Schwefelnatriumlösung, so entsteht sogleich Hämochromogen. — Leider bewirkt der Zusatz von Kalilauge eine oft sehr starke Trübung durch die sich ausscheidenden Phosphate des Ca. u. Mg, so dass man nur in dünnen Schichten spektroskopieren kann (Schumm)[5]).

c) Zum schnellen und einwandfreien Nachweis von Blutfarbstoff im Harn empfiehlt Schumm folgende Extraktionsmethode, die es gestattet, den chemischen Nachweis durch die Guajakprobe oder die Benzidinprobe mit dem spektroskopischen Nachweis zu vereinigen. Mit

[1]) Vierordt, Zeitschr. f. Biol. 10. 29. 1874.

[2]) O. Schumm, Zeitschr. f. Physiol. u. Path. d. Stoffwechsels 1908, auch separat erschienen bei Urban und Schwarzenberg 1908.

[3]) J. Camus, Thèse de Paris 1903.

[4]) L. Lewin und C. Posner, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1887. 355. — G. Linossier, Bull. de la soc. chim. [2] 49. 691. 1888.

[5]) O. Schumm, l. c. sowie Münchn. med. Wochenschr. 55. 1488. 1908.

Digitized by Google

dieser Probe werden sowohl Oxyhämoglobin als auch Methämoglobin und eventuell auch Hämatin nachgewiesen.

50 ccm Harn werden mit 5—10 ccm Eisessig und 40—50 ccm Äther im Scheidetrichter stark geschüttelt. Nach erfolgter Trennung der beiden Schichten (eventuell müssen einige Tropfen Alkohol hinzugegeben werden) lässt man die untere wässerige Harnschicht abfliessen. Die Ätherlösung wird mit 5 ccm Wasser geschüttelt und die wässerige Schicht wieder abgelassen. Zu der gewaschenen Ätherlösung gibt man mehrere ccm Ammoniak und schüttelt unter Kühlung $^1/_2$ Minute. Die Reaktion muss nach dem Schütteln noch stark alkalisch sein. Man lässt nunmehr die mehr oder weniger stark gefärbte wässerige Schicht, die den Blutfarbstoff als Hämatin enthält, mit einem Teil der Ätherlösung (zum Schutz gegen Reoxydation der wässerigen Lösung) in ein am besten planparalleles Glas von 2—4 cm Durchmesser fliessen, setzt etwa 5—10 Tropfen gesättigter Schwefelammoniumlösung zu und untersucht spektroskopisch auf Hämochromogen. Ein Teil der Ätherlösung, siehe oben, kann zur Anstellung der Guajakprobe oder der Benzidinprobe benutzt werden.

2. Man erhitzt den Harn wie zum Nachweis des Albumins (S. 1106) zum Kochen; bei Gegenwart von Hämoglobin ist das Gerinnsel nicht weiss, sondern mehr oder minder braun, um so weniger aber, je mehr Eiweiss neben dem Blut im Harn enthalten ist.

Wesentlich schärfer wird die Probe in folgender Weise. Der Harn wird bei ganz schwach saurer Reaktion gekocht; falls kein deutliches Gerinnsel eintritt, gibt man etwas Eiweisslösung oder Eiweissharn (blutfrei) hinzu. Das entstandene Koagulum wird abfiltriert, ausgewaschen; dann wird mit ca. 20 ccm Alkohol, dem einige Tropfen konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt sind, verrieben, zum Sieden erhitzt und filtriert. Das Filtrat wird mit NaOH alkalisiert und mit einigen Tropfen Schwefelammoniumlösung versetzt zur Reduktion des Hämatins. Die Flüssigkeit zeigt jetzt das Spektrum des Hämochromogen. Bei Verarbeitung grösserer Harnmengen gestattet diese Probe den Nachweis sehr geringer Blutmengen. — Nach Schumm lassen sich jedoch kleine Blutmengen so nicht mehr sicher nachweisen.

3. Man macht den Harn mit Natronlauge stark alkalisch und kocht auf. Dabei liefert das Hämoglobin Hämatin, welches von den zugleich abgeschiedenen Erdphosphaten aufgenommen wird; der entstehende flockige Niederschlag ist schön blutrot (Heller)[1]. Sehr empfindliche Probe.

[1]) Heller, Zeitschr. d. k. k. Gesellsch. d. Ärzte zu Wien. 48. 1858.

Digitized by Google

Die Probe gelingt nach Rosenthal[1]) noch mit Harn, welchem auf das Liter 1 ccm Blut zugesetzt ist; bei nur halb soviel Blut ist sie unsicher.

Lässt sich die rote Färbung des Niederschlages nicht erkennen, weil der Harn, z. B. ikterischer, zu dunkel ist, so filtriert man den Niederschlag ab. Der Niederschlag löst sich in Essigsäure mit roter Farbe und entfärbt sich an der Luft allmählich. — Nach dem Gebrauch von Senna, Santonin, Rheum etc. geht gelber Farbstoff in den Harn über, der durch Alkalien gleichfalls rot wird; der Phosphatniederschlag wird in diesem Falle von Essigsäure mit citronengelber Farbe gelöst und färbt sich an der Luft violett. — Auch andere pathologische Farbstoffe (Hämatoporphyrin) enthaltender, hämoglobinfreier Harn kann nach Filehne einen roten Niederschlag geben. Der hämatinhaltige Niederschlag zeigt das alkalische Hämatinspektrum und lässt sich so leicht von dem durch Chrysophansäure oder Hämatoporphyrin gefärbten Niederschlag unterscheiden (Garrod)[2]).

Nach Schumm darf die Probe nur als Vorprobe gelten, da ihr negativer Ausfall kleinere Blutmengen, die aber klinisch noch von Bedeutung sind, nicht ausschliesst.

Nach Merz[3]) sind es wahrscheinlich die Mg-salze und Kalkeiweissverbindungen, welche beim Sieden bluthaltigen Harns mit Kalilauge die Hämatinfällung auslösen.

4. Gleichfalls sehr kleine Mengen Hämoglobin lassen sich nach Struve[4]) im Harn noch nachweisen, wenn man den Harn mit Tannin fällt und mit dem Niederschlag die Häminprobe (B. 9) anstellt.

Struve erhielt Hämin noch aus 20 ccm eines Harns mit 0,023% Blut, Rosenthal dagegen bei solcher Verdünnung nicht mehr, wohl aber noch, wenn dem Harn auf das Liter 0,5 ccm Blut zugesetzt war.

Nach Struve soll man den Harn erst mit etwas Ammoniak oder Alkalihydrat, dann mit Tannin versetzen, mit Essigsäure ansäuern, den Niederschlag auf einem Filter sammeln, auswaschen und nach dem Trocknen (in gelinder Wärme) der Häminprobe unterwerfen. Man kann auch den Harn direkt mit Tannin, wenn nötig unter Essigsäurezusatz, fällen.

Die Häminprobe stellt man in folgender Weise an: Man bringt ein sehr kleines Körnchen des Niederschlages auf einen Objektträger, legt ein Kochsalzkryställchen daneben, bedeckt mit dem Deckglas und füllt den Raum zwischen beiden Gläsern mit Eisessig. Dann erwärmt man das Präparat über einer kleinen Flamme, aber so, dass die Flüssigkeit nicht ins Sieden gerät, indem man zugleich den verdunsteten Eisessig immer wieder ersetzt. Bei Gegenwart von Hämoglobin umgibt sich das farbige Körnchen zunächst mit einer braunen Lösung und es erscheinen dann in der Nähe des Niederschlages oder in ihm selbst die charakteristischen rhombischen, braunen Kryställchen des Hämins. — Struve empfiehlt, die Essigsäure in der Kälte einwirken zu lassen.

Schumm löst den Tanninniederschlag in NH_3, setzt Schwefelammonium hinzu und spektroskopiert. Empfindlichkeitsgrenze 1 : 5000 bei Verarbeitung von 100 ccm Harn.

5. Rosenthal veraschte den Tanninniederschlag nach dem Auswaschen in einer Platinschale, löste die Asche in einigen Tropfen Salzsäure in der Wärme und prüfte die verdünnte, wenn nötig vorher durch ein mit Salzsäure gewaschenes schwedisches Filter filtrierte Lösung mit einer Mischung von Ferro- und Ferri-

[1]) C. Rosenthal, Virchows Archiv **103**. 516. 1886.

[2]) W. Filehne, Virchows Archiv **117**. 417. 1889. — Garrod, Edinburgh Med. Journ. Aug. 1897. 115.

[3]) G. F. Merz, Geneesk. Tijdsch. o. Nederlandsch-Indië **47**. 2. 226. 1907.

[4]) H. Struve, Zeitschr. f. analyt. Ch. **11**. 29.

Digitized by Google

cyankalium auf Eisen. Nach Zusatz von 0,5 ccm Blut zu 1 Liter normalem oder eiweisshaltigem Harn wurde selbst noch bei Verwendung von 25 ccm Harn deutlich Berlinerblau erhalten, während blutfreier, normaler oder eiweisshaltiger Harn eine viel schwächere Eisenreaktion gab.

6. Zur Isolierung kleiner Mengen Blut aus Harn hat sich Wolff der schon von Gunning und van Geuns[1]) ausgeführten Fällung des Hämoglobins mit essigsaurem Zink bedient (B. 4).

Zur Bildung des Niederschlages sollen 30—60 ccm Harn mit 0,1 Volumen 3%iger Zinkacetatlösung im Wasserbad erwärmt werden. Die ammoniakalische Lösung des Niederschlages benützt Wolff zur spektroskopischen Untersuchung.

Schumm reduziert die ammoniakalische Lösung und spektroskopiert dann. Die Empfindlichkeitsgrenze fand er dann bei 1 : 20000.

7. Sehr empfindlich und leicht ausführbar ist die von Sonnenschein[2]) angegebene Probe durch Fällung des Hämoglobins mit wolframsaurem Natron (S. 1117).

Der Harn wird nach reichlichem Zusatz von Essigsäure mit wolframsaurem Natron gefällt, der schmutzig rosenrote Niederschlag auf einem Filter gesammelt und auf dem Filter in mässig verdünntem Ammoniak gelöst. Die braunrote Lösung zeigt das Spektrum des alkalischen Methämoglobins (Taf. I. 2. Spektrum 2 b). Es lassen sich so noch Spuren Blut nachweisen.

8. Die nunmehr folgenden Reaktionen beruhen auf der Fähigkeit des Blutfarbstoffes und seiner eisenhaltigen Farbstoffderivate (Hämochromogen, Hämatin), Oxydation zu vermitteln. Das älteste hierauf beruhende Verfahren ist die van Deensche Guajakprobe, bei welcher Guajakonsäure zu Guajakblau oxydiert wird. Diese Oxydationen gehen nicht direkt vor sich, sondern es muss Sauerstoff in leicht aktivierbarer Form vorhanden sein, wie er im alten Terpentinöl sich vorfindet oder im H_2O_2 gegeben ist. Die Aktivierung dieses Sauerstoffes kann durch verschiedenste anorganische (viele Colloide) und organische Stoffe (z. B. katalytische Fermente) bewirkt werden. Die Reaktionen sind daher nicht eindeutig. Für den Harn kommt als Fehlerquelle insbesondere die Gegenwart von Leucocyten (bezw. Eiter) in Betracht. Man hat vielfach versucht, diese Probe schärfer zu machen. In der Regel werden die Reaktionen dadurch aber weniger eindeutig.

1. Guajakproben.

a) Die alte Guajakprobe nach van Deen mit Terpentinöl.

Die Guajakprobe. In einem Reagenzrohr mischt man gleiche Teile Guajaktinktur und alten Terpentinöles, welches an der Luft unter dem Einfluss des Lichtes stark ozonhaltig, wie man früher sagte, oder was richtiger ist, an Peroxyden reich geworden ist (Liebermann).

[1]) C. H. Wolff, Pharm. Zentralh. 28. 617. 1887; Chem. Zentralbl. 299. 1888. — J. W. Gunning und J. van Geuns, Ebenda 37. 1871. — O. Schumm l. c.
[2]) F. C. Sonnenschein, Vtjschr. f. gerichtl. Med. [2]. 17. Heft 2. Chem. Zentralbl. 424. 1873.

Digitized by Google

Zu diesem Gemenge, welches keine Blaufärbung zeigen darf, setzt man dann Harn. Bei Gegenwart von Blut oder Blutfarbstoff tritt nun an der Berührungsstelle der Flüssigkeiten erst ein blaugrüner und dann ein schön blauer Ring auf. Beim Umschütteln wird das Gemenge mehr oder weniger schön blau. Normaler und auch eiweisshaltiger Harn gibt diese Reaktion nicht (Hammarsten)[1]). Die Guajaktinktur benutzt man zweckmässig als 1—5%ige Lösung in 96%igem Alkohol. Das beim Zusetzen der Guajaktinktur zum Harn sich ausscheidende Harz kann durch Zusatz von Alkohol absol. wieder gelöst werden (Holländer)[2]).

Die Reaktion kommt nach Liebermann in der Weise zustande, dass der Blutfarbstoff auf das in dem Terpentinöl enthaltene Peroxyd wirkt. Durch den entstehenden aktiven Sauerstoff wird die Guajakonsäure zu Guajakblau (Guajakonsäureozonid). Terpentinöl enthält weder Ozon noch H_2O_2 (Engler und Weinberg, Carlson, Liebermann, Vitali[3])).

Eiter gibt die Blaufärbung schon ohne Terpentinöl. Die bläuende Wirkung des Eiters geht im Gegensatz zu der des Blutfarbstoffes beim Erhitzen verloren. Einen in Zersetzung befindlichen, alkalischen Harn muss man vorher schwach ansäuern. Das Terpentinöl soll am Tageslicht, die Guajaktinktur in dunkler Flasche aufgehoben werden. Die Reagentien sind in zweifelhaften Fällen mit Blut auf ihre Brauchbarkeit zu prüfen. Die Probe ist sehr scharf. Bei negativem Ausfall sind daher auch Spuren von Blut auszuschliessen. Bei positivem Ausfall ist, da die Probe nicht entscheidend für Blutfarbstoff ist, die Probe durch andere Proben zu kontrollieren.

Nach Alsberg bläut Hämoglobin (und seine Derivate) wahrscheinlich deshalb, weil es in Gegenwart von H_2O_2 Eisen abspaltet. Carlson sowie Pighini[4]) betonen die Wirksamkeit von „kolloidalem Eisenoxyd"; letzterer glaubt, dass bei der Guajakreaktion des Blutes das Hauptelement das ausserhalb des Hämoglobins befindliche Eisen des Blutes sei.

Die Reaktion mit Guajakonsäure (sowie mit Aloin, siehe später) wird von allen eisenhaltigen Derivaten des Hämoglobin gegeben. Mit Hämatoporphyrin ist dieselbe negativ (Buckmaster). Blut gibt die Guajakreaktion auch nach dem Aufkochen. Eiter nicht. Hämatin, Hämin geben die Reaktion, Bilirubin nicht (Lesser, Moitessier)[5]).

[1]) O. Hammarsten, Lehrbuch d. physiol. Ch. 6. Aufl. 1907. 647.

[2]) Hugo Holländer, Budapesti orvosi ujság 1905. Nr. 39; Jahresber. f. Tierch. 35. 141. 1905.

[3]) Liebermann, Pflügers Archiv **104**. 207 u. 227. 1904. — Vitali, Jahresber. f. Tierch. 18. — C. Engler und Weinberg, Ber. d. chem. Gesellsch. **31**. 3046. — C. E. Carlson, Zeitschr. f. physiol. Ch. **48**. 59. 1906. — L. Liebermann und P. Liebermann, Pflügers Archiv **108**. 489. 1905.

[4]) K. L. Alsberg, Archiv f. exper. Pathol. u. Pharm. 1908. Supplementband. Schmiedeberg-Festschrift. 5. 39. — G. Pighini, Arch. Fissilogica 4. 67. 1908; Jahresber. f. Tierch. 38. 186. 1908.

[5]) G. A. Buckmaster, Journ. of physiol. **35**. 45. 1907. — E. J. Lesser, Zeitschr. f. Biol. 49. 571. 1907. — J. Moitessier, Compt. rend. Soc. biol. 57. 373. 1904.

Digitized by Google

Nach Schumm[1]) erreicht man die grösste Genauigkeit (1:40000), wenn man zu 5 ccm Harn 3—5 Tropfen Guajaktinktur und 20 Tropfen Terpentinöl hinzusetzt und unter öfterem Schütteln einige Minuten stehen lässt.

A. Bolland[2]) bedient sich statt der Guajaktinktur einer 0,5%igen Lösung von Guajaconsäure. Bolland gibt die Empfindlichkeitsgrenze zu 1:12000 an. Durch Zusatz von Zitronensäure wird die Guajakreaktion des Blutfarbstoffes nicht gestört, die Reaktion mit Eisensalzen dagegen gehemmt.

Nach Schröder[3]) soll man für verschiedene Blutverdünnungen verschieden konzentrierte Guajaktinkturen benutzen, und zwar 5, 0,5, und 0,1%ige in 96%igem Alkohol. Bei Verwendung von Harn direkt soll man je 2 ccm Guajaktinktur und Terpentinöl mit 10 ccm Harn zusammengeben. Bei Benutzung eines Ätherextraktes nach Weber je 1 ccm Guajaktinktur, Terpentinöl und Ätherextrakt. — Nach Schumm und Rothschild kommt man sehr wohl mit einer Guajaktinktur aus, wenn man sich an die obige Vorschrift von Schumm hält.

Schumm gibt doch dem Terpentinöl den Vorzug vor dem Wasserstoffsuperoxyd (s. unter b), vorausgesetzt, dass man gutes Terpentinöl hat. Dieses beschafft er sich in folgender Weise. Man lässt käufliches Terpentinöl in weiten, flachen Schalen in dünner Schicht bei Zimmertemperatur am Tageslicht längere Zeit stehen. Es wird dabei dickflüssig und riecht kaum mehr wie Terpentinöl (das spezifische Gewicht beträgt 1,23 gegen 0,87 des frischen Öles). Wegen der Sirupkonsistenz ist dieser an sich sehr wirksame Sirup ungeeignet. Man verdünnt ihn daher mit etwa der fünffachen Menge gewöhnlichen Terpentinöles. Dieses Öl bildet reichlich Jod aus Jodkaliumlösung als Zeichen seiner Wirksamkeit.

Galle bläut häufig Guajaktinktur (Schumm)[4]). Über das Verhalten von Gallenharn ist mir nichts bekannt geworden (Schulz).

Die Verwendung des Terpentinöls hat manche Nachteile. Vor allem den, dass die Wirksamkeit sehr verschieden ist, je nach der Vorbehandlung. Ferner ist das Verschmieren der Reagenzgläser unangenehm. Letzteres lässt sich nach Schaer[5]) erheblich mindern, wenn man als Lösungsmittel des Guajak-Harzes und des Blutfarbstoffes hoch konzentrierte Chloralhydratlösung benutzt.

b) Die Guajakprobe mit Wasserstoffsuperoxyd. Wasserstoffsuperoxyd ist vielfach als Ersatz für Terpentinöl empfohlen worden (Schmilinsky, Holländer, Schaer, Carlson)[6]); Carlson unterschüttet ein Gemisch von Harn und Guajaktinktur mit Wasserstoffsuperoxydlösung. Die Blaufärbung entsteht dann in dem unteren Teil der Flüssigkeit. Nach den eingehenden Versuchen von Schumm steht das Wasserstoffsuperoxyd dem guten Terpentinöl an Empfindlichkeit aber nach, s. vorher.

[1]) J. O. Schumm, Zeitschr. f. physiol. Ch. **48**. 69. 1906; **50**. 375. 1907.
[2]) A. Bolland, Zeitschr. f. analyt. Ch. 46. 621. 1907.
[3]) Knud. Schröder, Jahresber. f. Tierch. **37**. 188. 1907.
[4]) O. Schumm, Zeitschr. f. physiol. Ch. **50**. 374. 1907.
[5]) E. Schaer, Pharm. Zentralbl. 46. 568. 1905.
[6]) Schmilinsky, Münchener med. Wochenschr. 2145. 1903. — H. Holländer l. c. — Ed. Schaer l. c. — Carlson l. c.

Digitized by Google

Eine ganze Anzahl von Fehlerquellen bei dieser Guajakprobe, sowie bei den anderen Oxydationsproben, wird ausgeschaltet, wenn man den Nachweis nicht im Harn direkt, sondern im nach Ansäuern mit Eisessig gewonnenen Ätherextrakt anstellt. Diesen Vorschlag hat zuerst Weber[1]) gemacht. Von der Verwendung des Essigsäureätherextraktes ist dann später vielfach Gebrauch gemacht worden.

Die genauere Vorschrift zur Herstellung des Essigsäureätherextraktes siehe S. 1224.

2. Proben mit Barbados-Aloin. Aloin wird unter ähnlichen Bedingungen, wie sie bei der Guajakprobe in Betracht kommen, **rot** (Schaer, Klunge, Rossel, Boas u. a.).

a) Vorschrift von Rossel[2]). 4—6 ccm Harn werden mit 15—20 Tropfen konzentrierter Essigsäure und 6—8 ccm Äther lebhaft geschüttelt. Zum dekantierten Äther werden 15—20 Tropfen altes Terpentinöl (oder 10—20 Tropfen frisches starkes Wasserstoffsuperoxyd) hinzugegeben und dann 30—40 Tropfen frischer Lösung von Barbadosaloin. Nach 1—3 Minuten tritt Rotfärbung ein. Beim Verdünnen mit dem gleichen Volum Wasser wird die Farbe intensiv kirschrot. 1:10 000 Blut werden sicher angezeigt. Störende Stoffe sollen im Harn nicht vorhanden sein. Die Aloinprobe ist also nicht sehr empfindlich.

Die Aloinlösung wird bereitet durch Auflösen von Aloin in mit dem gleichen Volum Wasser verdünntem Alkohol von 90%.

b) Vorschrift von Boas[3]). Der Essigsäureätherextrakt wird mit 20 bis 30 Tropfen Terpentinöl und 10—15 Tropfen Aloinlösung versetzt. Einige Tropfen Chloroform beschleunigen die Reaktion.

Schaer verwendet starkes Chloralhydrat als Lösungsmittel. v. Torday[4]) verwendet 3% alkoholische Lösung.

M. Einhorn[5]) stellt sich ein Aloinpapier durch Tränken von Filtrierpapier mit einer Lösung von Aloin in 70%igem Alkohol her. Dieses Papier wird in die zu untersuchende Flüssigkeit eingetaucht und dann mit Wasserstoffsuperoxyd übergossen. Binnen ½ bis 1 Minute soll Blaufärbung eintreten. Längeres Warten ist nicht zu empfehlen.

3. Verfahren von R. u. O. Adler[6]). Benzidinprobe.

Die Probe kann angestellt werden mit einer wässerigen Blutlösung oder auch mit Essigsäureätherextrakt (s. vorher).

---

[1]) H. Weber, Berliner klin. Wochenschr. 441. 1893.

[2]) O. Rossel, Deutsches Archiv f. klin. Med. 76. 505. 1903. — Derselbe, Compt. rend. de la soc. biol. 55. 347. 1903.

[3]) J. Boas, Deutsche med. Wochenschr. 00. 865. 1903.

[4]) E. Schaer, Zeitschr. f. analyt. Ch. 42. 7. 1903. — A. v. Torday, Orvosi Hetilap 49. 229. 1905; Wiener klin. Rundschau 19. 453 u. 491. 1905.

[5]) M. Einhorn, Deutsche med. Wochenschr. 33. 1089. 1907.

[6]) R. und O. Adler, Zeitschr. f. physiol. Ch. 41. 67. 1904. — D. Vitali, Bull. Chim. Farm. 42. 177. 1903; 43. 81. 1904. — N. Tarugi, Gaz. chim. ital. 32. II. 505. 1903; 33. II. 216. 1904.

Digitized by Google

Zur Anstellung in wässeriger Lösung wird mit etwas Wasserstoffsuperoxyd und einigen Tropfen Essigsäure versetzt und hierauf einige ccm Benzidinlösung hinzugefügt. Bei Gegenwart von Blut tritt eine prachtvolle Grünfärbung auf. Auch nach dem Kochen ist die Probe positiv. — Bei Verwendung eines Essigsäure-Ätherextraktes verfährt man in der gleichen Weise. Man setzt alkoholischer Benzidinlösung etwas H_2O_2 und einige Tropfen Essigsäure hinzu. — Zur Verwendung kommt eine in der Hitze konzentrierte und nach dem Abkühlen filtrierte alkoholische Lösung von Benzidin.

In der gleichen Weise wie Blutfarbstoff können wirken: Eisenoxydulsalze (Vitali), Rhodansalze (Tarugi), oxydierende Fermente (indirekte Oxydasen). Auch reduzierende Substanzen können störend wirken (Harnsäure). Bei Verwendung einer gekochten Flüssigkeit bezw. eines Essigsäure-Ätherextraktes (nach Weber) lassen sich diese Fehlerquellen umgehen.

Die Probe ist mit Blutlösungen 1 : 100 000 noch deutlich. Guajakprobe 1 : 5000 (Hager); Teichmannsche Probe 1 : 20 000 (R. und O. Adler). Nach Schumm und Westphal[1]) ist die Empfindlichkeit sogar 1 : 200 000 (die der Guajakprobe 1 : 25 000). Mit Harn ist die Reaktion weit weniger empfindlich (Schumm).

Die im Handel vorkommenden Benzidinpräparate sind nicht gleichwertig. Vorschriftsmässig hergestellte Lösungen zeigten gelegentlich schon nach 5 Tagen eine deutliche Abnahme der Wirksamkeit. Es kommt vor, dass ältere Benzidinlösungen an sich bei Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd und Essigsäure schon eine bläulichgrüne Färbung geben. Man hat daher die Benzidinlösung vorher einer Prüfung zu unterziehen (Schumm und Westphal). Das Benzidin Merck wird mehrfach empfohlen (Schumm, Walter)[2]).

Semal[3]) empfiehlt die Benzidinprobe in folgender Form. Man löst in der Wärme 1 g Benzidin in 10 ccm Eisessig und 30 ccm Wasser, filtriert und ergänzt das Gesamtvolum auf 40 ccm. Zu 25 ccm Harn fügt man einige Tropfen 10%iger Essigsäure und erwärmt leicht bis zum Erscheinen einer geringen Trübung. Dann filtriert man den Harn, wäscht das Filter mit heissem Wasser, tränkt es zuerst mit $^1/_3$ verdünntem H_2O_2 (12 Vol. %) und nachher mit $^1/_2$ ccm der Benzidinacetatlösung unter Drehbewegungen des Trichters, so dass alle Teile des Filters durchfeuchtet werden. Die geringsten Blutspuren bewirken fast sogleich eine starke blaue Färbung des Filters, welche durch Zusatz von Essigsäure grau, durch Salzsäure gelb wird. Eiweiss und Eiter enthaltende Harne können nach einiger Zeit, wenn das Filter trocken geworden ist, eine von der charakteristischen deutlich verschiedene schmutziggrüne Färbung zeigen.

[1]) O. Schumm und C. Westphal, Zeitschr. f. physiol. Ch. **46**. 512. 1906. — O. Schumm, Deutsche med. Wochenschr. **33**. 1741. 1907.
[2]) E. Walter, Deutsche med. Wochenschr. 36. 309. 1910.
[3]) O. Semal, Ann. de pharm. 14. 145. 1908.

Digitized by Google

Nach Oettinger und Girault[1]) ist die Empfindlichkeit der Benzidinprobe 1 : 250 000, die der van Deen-Weberschen Guajakprobe 1 : 25 000.

M. Einhorn[2]) stellt sich ein sehr empfindliches Benzidinpapier her, indem er mit benzidingesättigtem Eisessig Filtrierpapier durchtränkt. Das Papier wird in die betreffende Flüssigkeit eingetaucht und dann mit Wasserstoffsuperoxyd übergossen. Die Grünfärbung soll innerhalb ½ Minuten eintreten.

Weinberger empfiehlt die mit der zu untersuchenden Flüssigkeit durchtränkten Papierstreifen zur Hälfte in die H_2O_2-Lösung eintauchen zu lassen. Die durch Eintrocknen bedingte Spontanbläuung bleibt dann aus.

Utz[3]) empfiehlt eine konzentrierte Lösung von Benzidinpurpursäure Merck in Eisessig oder Alkohol, von welcher man 10—12 Tropfen mit 2½—3 ccm 3%igem Wasserstoffsuperoxyd mischt. Die Pyridinlösung ist nicht haltbar (Utz).

Siegel[4]) hatte angegeben, dass die Benzidinprobe mit Milch und Eiter keine Reaktion gebe, dass sich der Blutfarbstoff bei dieser Reaktion von den Oxydasen unterscheide. Dieser Angabe ist aber von Schumm und Westphal widersprochen worden.

4. Verfahren von R. u. O. Adler[5]) mit Malachitgrün.

Man versetzt den Essigsäure-Ätherextrakt mit Leucomalachitgrünreagens und etwas Wasserstoffsuperoxyd. Sollte hierbei etwas von der Leucobase ausfallen, so kann diese durch etwas Eisessig wieder in Lösung gebracht werden. Bei Gegenwart von Blut tritt Grünfärbung auf.

Das Reagens stellt man folgendermassen dar: Man bereitet eine konzentrierte Lösung der völlig farblosen, chemisch reinen Leucobase[6]) des Malachitgrün (Tetramethyldiamidotriphenylmethan) in Eisessig. Zur Entfernung der selbst bei Verwendung eines vollkommen farblosen Präparates meist auftretenden minimalen Grünfärbung setzt man der Lösung eine gleiche Menge von Chloroform zu. Man tropft nun in die Mischung unter vorsichtigem Schwenken so lange Wasser, bis das Chloroform vollständig ausgefallen ist. Hierauf trennt man das grün gefärbte Chloroform von dem darüber befindlichen Reagens. Eine etwa vorhandene Trübung des Reagens, welche durch Ausfallen der Leucobase bedingt sein kann, wird durch Zusatz von Eisessig beseitigt. Sollte das Reagens noch Spuren einer Grünfärbung aufweisen, so wird diese durch Ausschütteln mit wenig Chloroform beseitigt. Das so bereitete Reagens muss vollkommen farblos sein.

Bei Gegenwart reichlicher Mengen von Eisensalzen kann trotz Vorhandensein von Blut die Grünfärbung ausbleiben und an deren Stelle eine Gelbfärbung auftreten. Eisensalze sind daher auszuschliessen, was im Harn und namentlich im Essigsäure-Ätherextrakt der Fall ist.

Die Schärfe der Reaktion ist die gleiche wie bei der Benzidinprobe. Negativer Ausfall dieser beiden Proben zeigt, dass selbst minimale Blutspuren fehlen. Bei positivem Ausfall sind die obenerwähnten Fehlerquellen zu berücksichtigen.

5. Die Paraphenylendiaminchlorhydratprobe von Boas[7]).

---

[1]) Oettinger und Girault, La semaine méd. 26. 325. 1906.

[2]) M. Einhorn, Deutsche med. Wochenschr. 33. 1089. 1907. — Weinberger, Münchener med. Wochenschr. 55. 2538. 1908.

[3]) F. Utz, Chemikerztg. 31. 737. 1907.

[4]) M. Siegel, Münchener med. Wochenschr. 33. 1579, 1905. — Schumm und Westphal l. c.

[5]) R. und O. Adler, Zeitschr. f. physiol. Ch. 41. 67. 1904.

[6]) Reine Leucobase, sowie fertiges Reagens liefert Grossdrogerie Wilhelm Adler, Karlsbad.

[7]) J. Boas, Zentralbl. f. d. inn. Med. 27. 601. 1906.

Digitized by Google

Zu dem Eisessig-Ätherauszug werden 1—2 Tropfen 0,5%ige Paraphenylendiaminchlorhydratlösung und 1 ccm n/2 alkoholische KOH zugegeben. Nach Zufügen von 10—15 Tropfen 3% H_2O_2 und kurzem Umschütteln färbt sich die Flüssigkeit bei Anwesenheit von Blut olivengrün, wobei der grüne Ring zwischen Äther- und H_2O_2-Schicht besonders charakteristisch ist. Die Probe mit Guajaktinktur oder Aloin ist für verdünnte Blutlösungen etwa gleichwertig, die Benzidinreaktion entschieden schärfer. Dagegen ist die Probe für den Harn nach Schumm weniger empfindlich. Sie bietet aber den Vorteil, dass blutfreier, eiterhaltiger Harn keine oder nur sehr undeutliche Reaktion gibt.

Schumm und Remstedt[1]) empfehlen bei dieser Reaktion bei wässerigen Blutlösungen die Reagentien in folgender Reihenfolge zuzusetzen: 2 Tropfen ½%ige Paraphenylendiaminchlorhydratlösung, 1 ccm $\frac{n}{2}$ alkoholische KOH, 1 ccm H_2O_2 und dann tropfenweise etwa 5 Tropfen 30%ige Essigsäure. Der charakteristische Farbenumschlag tritt beim Zusatz der Essigsäure ein und zwar zunächst momentan Olivgrünfärbung; allmählich entsteht Rot-, Braunrot- oder Violettfärbung.

6. E. Rieglers Hydrazinreagens auf Blutfarbstoffe[2]). Die Reaktion beruht darauf, dass durch Reduktion mit Hydrazin in alkalisch-alkoholischer Lösung Hämochromogen erzeugt und spektroskopisch identifiziert wird.

10 ccm Harn werden mit 10 ccm Reagens geschüttelt und ½ Stunde stehen gelassen; dann spektroskopisch auf die Streifen des Hämochromogens geprüft. Bei sehr geringen Blutmengen wird das Kochkoagulum eventuell nach Zusatz von Eiweiss (s. vorher) mit dem Reagens behandelt.

Das Reagens wird hergestellt, indem man 10 g Natriumhydroxyd in 100 ccm Wasser löst und diese Lösung mit 5 g Hydrazinsulfat bis zur Lösung schüttelt Dann werden 100 ccm Alkohol von 96% zugefügt und nach Schütteln und zweistündigem Stehen filtriert. Das Reagens ist wasserklar und unbegrenzt haltbar.

7. Die Blutprobe mit Phenolphthalein. Phenolphthalin wird durch Sauerstoffübertragung zu Phenolphthalein (Meyer). Utz[3]) bestätigt diese Angabe von Meyer.

Slowzow[4]) gibt folgende Vorschrift: Man löst 2 g Phenolphthalein in 100 ccm 20%iger Lauge und reduziert mit 10 g Zinktalg. Die durch Erwärmen farblos gewordene Flüssigkeit wird unter flüssigem Paraffin aufbewahrt. Zur Reaktion mischt man 1 ccm derselben mit 2 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit und setzt 1—2 Tropfen 10%iges Wasserstoffsuperoxyd hinzu. Bei Gegenwart von Blut tritt sofort eine deutliche Rotfärbung ein.

Deléarde und Benoit halten die Phenolphthaleinprobe für brauchbar, Pozzi-Escot[5]) verwirft sie dagegen wegen zu zahlreicher Fehlerquellen. Er erhielt auch in einigen blutfreien Harnen positive Reaktion.

---

[1]) O. Schumm und H. Remstedt, Zentralbl. f. d. inn. Med. 27. 992. 1906; s. auch bei Schumm, Zeitschr. f. physiol. Ch. 50. 390. 1907 sowie Zentralbl. f. d. Physiol. u. Pathol. d. Stoffwechsels 1908. Separatabdruck. Seite 9.

[2]) E. Riegler, Zeitschr. f. analyt. Ch. 43. 539. 1904.

[3]) F. Utz, Chem. Ztg. 1903. 115¹. — E. Meyer, Münchn. med. Wochenschrift 1903. 1492.

[4]) B. J. Slowzow, Jahresb. f. Tierch. 39. 116. 1909. — Wratsch 1909. 641.

[5]) Deléarde u. Benoit, Compt. rend. soc. biol. 64. 1048. 1908. — L'écho méd. du Nord 12. 326. 1908. — M. Emm. Pozzi-Escot, Bull. soc. chim. de Belgique 22. 415. 1908.

Digitized by Google

VI. Methämoglobin.

A. Vorkommen. Das Methämoglobin ist im Blut und Harn angetroffen worden; doch sind nicht alle hierüber gemachten Angaben verlässlich, da der Nachweis öfter auf eine unvollständige spektroskopische Untersuchung gegründet war und deshalb Verwechslungen mit dem Hämatin nicht ausgeschlossen sind. — Nach Hoppe-Seyler [1]) enthält jeder Harn mit gelöstem Blutfarbstoff in frischem Zustand Methämoglobin, das beim Stehen des Harns aber zu Hämoglobin und weiterhin zu Sauerstoff-Hämoglobin wird.

B. Eigenschaften. 1. Das Methämoglobin besitzt dieselbe elementare Zusammensetzung wie das Oxyhämoglobin, hält aber den Sauerstoff fester gebunden. Durch schwache Oxydationsmittel (Ferricyankalium etc.), durch die Einwirkung saurer Salze etc. verwandelt sich das Sauerstoffhämoglobin in Methämoglobin (S. 1228). Erwärmen des Harns allein auf ungefähr 46° bewirkt nach Lewin und Posner [2]) die Überführung des Sauerstoffhämoglobins in Methämoglobin, stärkeres Erwärmen (auf ungefähr 48°) führt zur Bildung von Hämatin. Reduktionsmittel (Schwefelammon etc.) verwandeln das Methämoglobin in sauerstofffreies Hämoglobin, das seinerseits wieder Sauerstoff aufnehmen kann. Die Fäulnis bewirkt die gleiche Reduktion.

2. Das Methämoglobin krystallisiert in braunen mikroskopischen Nädelchen oder Tafeln; seine Lösungen sind gleichfalls braun.

3. In neutraler Lösung zeigt das Methämoglobin das Spektrum Tafel I 2a. Die vier Streifen entsprechen nach Bertin-Sans den Wellenlängen 633, 580, 538,5, 500; nach Vierordt liegt der Streifen I des Methämoglobinspektrums zwischen C 15 D und C 65 D, der Streifen II zwischen D 8 E und D 30 E und der Streifen III zwischen D 73 E und E 5 F.

Die Streifen II und III besitzen nahezu die Lage von α und β im Spektrum des Sauerstoffhämoglobins, nur ist II blasser als III, im Gegensatz zu den Hämoglobinstreifen. Nach Araki, sowie nach Dittrich [3]) rühren diese zwei Streifen von Hämoglobinresten her, nach Bertin-Sans sind sie dagegen dem Methämoglobin eigentümlich. Streifen IV ist am besten bei grosser Verdünnung der Lösung zu sehen. Der Streifen I, der dunkelste und auffälligste, fällt zusammen mit dem Streifen des Hämatins in saurer Lösung (Taf. I 3a) und dem des Cholecyanins in saurer Lösung (Taf. II 6a). Auf Zusatz von Ammoniak nimmt aber das Methämoglobinspektrum das Aussehen von Taf. II 6b an und ist dadurch vom alkalischen Spektrum des Hämatins und des Cholecyanins verschieden.

4. Seine übrigen Eigenschaften sind die des Hämoglobins; doch unterscheidet es sich von diesem noch dadurch, dass es durch basisch essigsaures Blei oder in neutraler Lösung durch neutrales essigsaures Blei gefällt wird.

C. Nachweis. Der Nachweis des Methämoglobins ist nur durch das Spektroskop sicher zu führen. Doch darf man sich nicht allein durch das Auftreten des Spektrums, welches das Methämoglobin in neutraler Lösung zeigt, zur Annahme bewegen lassen, dass der Farbstoff vorhanden sei, sondern hat, um Verwechselungen, namentlich mit Hämatin vorzubeugen, das Spektrum nach B. 3. noch näher zu untersuchen. Die daselbst angegebenen Reaktionen lassen sich auch mit Harn recht wohl ausführen.

Beeinträchtigt kann das Spektrum des Methämoglobins werden durch die Gegenwart anderer Farbstoffe, die so wie das Hämoglobin selbst ein Absorptions-

[1]) Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Ch. **5**. 6.
[2]) L. Lewin und C. Posner, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1887. 355.
[3]) H. Bertin-Sans, Comptes rendus **106**. 1243. 1888. — Vierordt, Die quantitative Spektralanalyse etc. Tübingen 1876. 60. — T. Araki, Zeitschr. f. physiol. Ch. **14**. 405. 1890. — P. Dittrich, Archiv f. exper. Pathol. **29**. 247. 1891.

Digitized by Google

spektrum besitzen, deren Streifen in die Region der Streifen des Methämoglobins (in alkalischer Lösung) fallen, oder die, wie der Gallenfarbstoff oder das Urobilin, das Gesichtsfeld verdunkeln. Der Gallenfarbstoff lässt sich in solchem Falle in der Weise entfernen, dass man den Harn mit Ammoniak schwach alkalisch macht und mit Chlorcalcium ausfällt. Sauerstoffhämoglobin sowie Urobilin lassen sich vor dem Methämoglobin nicht abscheiden; ist die Gegenwart dieser für die Beobachtung störend, so fällt man den Harn, nach Entfernung des Gallenfarbstoffes durch Chlorcalcium, mit basisch essigsaurem Blei, zerlegt den Niederschlag mit kohlensaurem Natron und untersucht die so gewonnene Farbstofflösung spektroskopisch.

VII. Die Proteinsäuren des Harns.

A. Vorkommen und Bedeutung.

Erst in neuerer Zeit ist eine Gruppe von Stoffen bekannt geworden, die offenbar hochmolekulare Verbindungen enthält, die durch ihren Stickstoffgehalt sich als in Beziehung zum Eiweissstoffwechsel stehend dokumentiert. Hierher gehört die Uroprotsäure Cloettas, die verschiedenen Oxyproteinsäuren, die Bondzynki und seine Schüler beschrieben haben, die Uroferrinsäure von Thiele und andere Substanzen mehr, die man früher zu den stickstoffhaltigen Extraktivstoffen des Harns rechnete. Die Darstellung und chemische Charakterisierung dieser Proteinsäuren ist schwierig, dagegen ist verhältnismässig leicht, sich über die absolute Menge dieser Stoffe einen Anhaltspunkt zu verschaffen. Es scheinen bestimmte Beziehungen zwischen der Menge dieser Stoffe und bestimmten Erkrankungen zu bestehen, so dass die Bestimmung dieser Stoffe beträchtliches klinisches Interesse gewonnen hat. Bei der Schwierigkeit der Darstellung ist es nicht zu verwundern, dass die Angaben über die Eigenschaften beträchtlich voneinander abweichen.

Es seien zunächst die Beobachtungen der Reihe nach aufgeführt.

C. Voit beobachtete zuerst im Harn eine N- und S- enthaltende Substanz, die ebenso wie der Harnstoff eine Verbindung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd eingeht, deren Elementaranalyse aber keine übereinstimmenden Ergebnisse hatte. Er berechnete die Menge des in dieser Substanz enthaltenen Kohlenstoffs auf bis zu 12 g pro Tag. Pettenkofer und Voit berechneten später den C-Gehalt dieser Verbindung auf etwa 5 g beim Menschen. Bondzynski und Gottlieb gelang es 1897 aus dem Harn von Hunden eine neben Harnstoff durch salpetersaures HgO fällbare Säure darzustellen und zu analysieren, die sie wegen ihrer Ähnlichkeit mit der von Maly bei Oxydation von Eiweiss mit Permanganat gewonnenen Peroxyproteinsäure „Oxyproteinsäure" nannten. Bei Phosphorvergiftung soll diese Säure vermehrt sein. Sie fanden, dass der N der Säure 2—3% vom Gesamtharnstickstoff des Menschen und $2\frac{1}{2}$% von dem des Hundes ausmache. Töpfer gelangte bei einer Nachprüfung dieser Angaben zu einem in braunen Drusen krystallisierenden, sauren, durch alkalische Sublimatlösung fällbaren Stoffe. Er berechnete im Harn die vorhandene Menge Harnstoff, Harnsäure, Ammoniak, Alloxurkörper, Kreatinin und Hippursäure und fand so, dass von der Gesamtmenge des Harnstickstoffs nur ein Rest von $^1/_{10}$% für Substanzen

Digitized by Google

unbekannter Art übrig blieben. — Cloetta[1]) isolierte ein Gemenge von Säuren der Oxyproteinsäuregruppe, das er Uroproteinsäure nannte. Bei Zersetzung mit Schwefelsäure erhielt er Ameisensäure, Kohlensäure und Ammoniak.

Pregl[2]) ging auf die Voitschen Angaben zurück, isolierte ein nach dem damaligen Stand der Frage einheitlich erscheinendes Gemenge von Oxyproteinsäuren und bestätigte die Zahlenwerte von Bondzynski und Gottlieb. — Pfaundler fand bei seiner Fraktionierung des Harnstickstoffs eine Gruppe, die durch Phosphorwolframsäure nicht fällbar ist und deren Stickstoff fest gebunden ist, die ungefähr hinsichtlich ihrer Grössenordnung dem entspricht, was Bondzynski und Gottlieb für ihre Oxyproteinsäure ermittelt hatten; in dieser Gruppe ist ein beträchtlicher Teil der Oxyproteinsäure enthalten. — Bondzynski und Panek gewannen aus der Oxyproteinsäure durch Bleiessigfällung eine andere Säure, die sie Alloxyproteinsäure nannten, deren Anteil am Gesamtstickstoff sie zu 0,68% bezifferten. In 24 Stunden wurden 1,2 g Alloxyproteinsäure ausgeschieden. — Donzé und Lambling berechneten die Gesamtmenge derjenigen mangelhaft charakterisierten Stoffe, deren Quantum und N-Gehalt noch nicht bestimmt war und fanden, dass dieselben 2,5—8,4% des Gesamtstickstoffs ausmachten. — Unter dem Namen Uroferrinsäure beschrieb Thiele eine schwefelhaltige Säure, von der Zusammensetzung $C_{35}H_{56}N_8SO_{13}$, welche er nach einem der Siegfriedschen Eisenammoniakalaunmethode zur Peptongewinnung nachgebildeten Verfahren aus Harn isoliert hatte. Die Existenz dieser Verbindung wurde von Bondzynski und seinen Schülern in Zweifel gezogen. Liebermann ist jedoch diesen Zweifeln entgegengetreten. Bondzynski, Dombrowski und Panek stellten 1905 eine dritte Oxyproteinsäure dar. Sie fanden, dass nach Abfiltrieren des bei saurer Reaktion durch Quecksilberacetat ausfallenden Niederschlages beim Neutralisieren mit Natriumcarbonat ein weiterer reichlicher Niederschlag sich ausscheidet. Sie bezeichnen die bei saurer Reaktion ausfallende Substanz als Antoxyproteinsäure, die andere Säure nannten sie Oxyproteinsäure. — Durch Extraktion mit heissem Alkohol aus dem mit Baryt zerlegten Phosphorwolframsäureniederschlag des Harns konnte Hári eine stickstoffhaltige Säure $C_{30}H_{47}N_2O_{13}Zn_4$ isolieren. Hári hebt hervor, dass seine Säure verschieden sei von Urobilin, Oxyproteinsäure, Alloxyproteinsäure und Uroferrinsäure. — Abderhalden und Pregl haben durch Dialyse aus dem Alkoholextrakt des Harns ein Gemenge von Stoffen isoliert, das keine freien Aminosäuren enthielt, bei der Hydrolyse jedoch Benzoesäure, Alanin, Phenylalanin, Leucin lieferte. Sie sprechen dasselbe als polypeptidartigen Körper an.

Ginsberg fand nach einer besonderen Methode zur quantitativen Bestimmung der Oxyproteinsäurefraktion des Harnes, dass beim Menschenharn 3,1—5,0% des Gesamtstickstoffs auf diese Gruppe fallen, so dass dieselbe mit etwa 1½—3½ g pro Liter die Menge sämtlicher anderer stickstoffhaltiger organischer Stoffe des Harns, mit Ausnahme des Harnstoffs, übertrifft. Im Hundeharn entfallen unabhängig von der Ernährung und der Individualität 2% des Gesamt-N auf diese Gruppe. Auch bei Pferd, Kaninchen, Gans bewegen sich die Werte in der gleichen Grössenordnung. Bei Erkrankungen (Mensch) fand

[1]) C. Voit, Zeitschr. f. Biol. **1**. 127. 146. 1865. — M. v. Pettenkofer und C. Voit, Ebenda **2**. 470. 1866. — St. Bondzynski und R. Gottlieb, Zentralbl. d. med. Wissensch. Nr. 33. 577. 1897. — G. Töpfer, Ebenda, Nr. 41. 705. 1897. — M. Cloetta, Archiv f. exper. Pathol. u. Pharm. **40**. 29. 1897.

[2]) F. Pregl, Pflügers Archiv **75**. 87. 1899. — M. Pfaundler, Zeitschr. f. physiol. Ch. **30**. 76. 1900. — St. Bondzynski und K. Panek, Ber. d. chem. Gesellsch. **35**. 2959. 1903. — Donzé und Lambling, Journ. de physiol. et pathol. gén. **5**. 225. 1903; Compt. rend. soc. biol. **55**. 1023. 1903. — O. Thiele, Zeitschr. f. physiol. Ch. **37**. 251. 1900. — St. Bondzynski, St. Dombrowski und K. Panek, Ebenda, **46**. 83. 1905. — H. Liebermann, Ebenda **52**. 129. 1907. — P. Hári, Magyar orvosi archivum **6**. 539. u. 585. 1905; — Zeitschr. f. physiol. Ch. **46**. 1. 1905. — E. Abderhalden und F. Pregl, Ebenda **46**. 19. 1900.

Digitized by Google

Ginsberg keine auffallenden Verschiebungen dieses Mengenverhältnisses, jedoch war die Zahl seiner darauf gerichteten Untersuchungen nur gering. Bei Phosphorvergiftung (Hund) war die Oxyproteinsäureausscheidung erheblich vermehrt. — E. Salkowski (s. auch S. 469) fand, dass im normalen Harn der N-Gehalt des Alkoholniederschlages etwa 3—5% des Gesamtstickstoffes ausmacht, während in pathologischen Fällen (Carcinomkranke) derselbe auf 8—9% steigt. In einem Falle von Phosphorvergiftung, von akuter gelber Leberatrophie bei einer Schwangeren, stieg derselbe sogar auf 28%. Salkowski fand in seinem Alkoholniederschlage, dass mindestens zwei Körper vorhanden waren, ein stickstoffreicherer und ein stickstoffärmerer. Vor allem soll es sich um ein schwer dialysabeles, kolloidales, durch Säure hydrolysierbares, stickstoffhaltiges Kohlehydrat handeln. Mit Rücksich auf die späteren Untersuchungen von Salomon und Saxl weist Salkowski darauf hin, dass seine mit dem primitiven Alkoholverfahren (s. S. 469) gewonnenen Werte nicht mit den Oxyproteinsäurewerten identifiziert werden können, dass aber doch vielleicht die nach diesem einfachen Verfahren gewonnenen Werte eine ähnliche Bedeutung gewinnen können, wie die nach dem komplizierteren Verfahren der Bestimmung des Oxyproteinsäurestickstoffes. Das Verfahren ist zwar einfach, hat aber doch Schwierigkeiten, die zu Fehlern führen können. — Nach einem hiervon abweichenden Verfahren bestimmte Gawinski[1]) den N der Proteinsäuren, und zwar für den gesunden Menschen bei gemischter Kost zu 4,5—6,8% des Gesamt-N, bei möglichst reichlicher Fleischkost zu 5,24%, bei Milchkost zu nur 2,9%. Bei Untersuchung des Harns von 6 Typhuskranken war 4 mal der Proteinsäure-N erhöht (7,52%, 9,48%, 10,03%, 14,69% des Gesamt-N), 2 mal war derselbe niedrig (2,4% und 3,59%). In einem ikterischen Harn (Lebercirrhose) betrug derselbe 8,65%.

Salomon und Saxl[2]) bestimmten, anlehnend an das Verfahren von Ginsberg. Sie fanden im allgemeinen wesentlich niedrigere Werte wie Ginsberg und Gawinski. Bei 92 nicht carcinomatös Erkrankten schwankte der Oxyproteinsäurestickstoff um 1½% (1,1—2,1) in 88 Fällen, also der grossen Mehrzahl. Nur 3 Fälle gaben Werte über 2.1. Bei zweien derselben war Carcinom in Frage. Im dritten Falle handelte es sich um sekundäre Lebercirrhose nach Cholelithiasis. Von 38 untersuchten sicheren Carcinomfällen, die 64 mal untersucht wurden, gaben 31 Fälle Werte über 2½%, zuweilen bis 3½%. Nur 3 Carcinome hatten einen Wert, der unter 2% lag. Ähnlich hohe Werte ergab die Untersuchung von 12 hochgraviden Frauen. Das Verhältnis der Oxyproteinsäure zum Gesamtstickstoff war in den einzelnen Tagesportionen das gleiche wie im Gesamtharn. Die Nahrungsaufnahme, sowie die Art der Nahrung, ebenso wie Fieber, Anämie, Kachexie beeinflussen den relativen Oxyproteinsäurewert nicht nennenswert. Der Wert dieser Angaben beruht natürlich auf der Zuverlässigkeit der Methode.

Kojo hat auf Anraten von Salkowski ein Verfahren ausgearbeitet um die Menge des durch Blei- bezw. durch Zinksalze fällbaren N zu bestimmen. In dieser N-Fraktion sind die Oxyproteinsäuren enthalten, aber auch andere Stoffe, z. B. Harnsäure. Nach dem „Bleiverfahren“ erhält er im Mittel 1.3% des Gesamt N bei Gesunden (Max. 1.5%), 3,03% bei Karzinomkranken (Minimum 2.15%, Maximum 4.62%). Nach dem „Zinkverfahren“ wurden mit Zinksulfat erhalten bei Gesunden 1.32-1.54% (Mittel 1.45%) des Gesamt N, mit Zinkchlorid 1.30—1.52% (Mittel 1.42%), bei Carcinomatösen 2.10—4.35% (Mittel 3.63%) bezw. 2.28—4.74% (Mittel 3.4%). Bei „direkter Fällung“ des Harns mit Zinkchlorid bezw. Sulfat wurde folgende Werte erhalten: mit Zinksulfat

[1]) W. Ginsberg, Hofmeisters Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10. 411. 1907. — E. Salkowski, Berliner klin. Wochenschr. 42. 1581 u. 1618. Nr. 51 u. 52. 1905; ebenda 47. 533. 1746. u. 2297. 1910. — H. Salomon und P. Saxl. Harnbefund bei Carcinomatösen. Beiträge z. Carcinomforsch. Aus der I. med. Klinik in Wien. Verlag Urban und Schwarzenberg. 1910. — W. Gawinski, Zeitschr. f. physiol. Ch. 58. 454. 1909.

[2]) Salomon und Saxl l. c.

Digitized by Google

im normalen Harn 1.70—1.82% (Mittel 1.73%) des Gesamt N, mit Zinksulfat im Karzinomharn 2,53—5.12% (Mittel 4.26%), mit Zinkchlorid in Karzinomharn 2.76—5.18% (Mittel 4.28%). — Einhorn, Kahn und Rosenbloom[1]) fanden nach dem Verfahren von Salkowski-Kojo normalerweise 1.9% (1.2—2.2%), bei Karzinomatösen 4.5% (2.3—8.5%).

B. Die einzelnen Proteinsäuren.

I. Antoxyproteinsäure.

A. Eigenschaften. 1. Die mittlere Zusammensetzung der Säure (aus dem Silbersalz berechnet) beträgt C 43,21%, H 4,91%, N 24,40%, S 0,61%, O 26,33%. Der geringe S-Gehalt ist nicht auf die Behandlung mit SH_2 zurückzuführen, denn eine Darstellung unter Umgehung der Behandlung mit SH_2 führte ebenfalls zu einem S-haltigen Ba-Salz. Eine Verunreinigung mit Oxyproteinsäure oder mit Alloxyproteinsäure ist ebenfalls unwahrscheinlich. Der S wird beim Kochen mit Alkali abgespalten.

2. Die Salze. Die antoxyproteinsauren Salze mit Na und K sind in Wasser sehr leicht löslich; ihre konzentrierten wässerigen Lösungen geben mit absolutem Alkohol beim Vermischen Emulsionen, welche Tropfen eines dicken Sirupes absetzen. Das Ca- und das Ba-Salz sind als weisse Pulver darstellbar, die in Wasser sehr leicht löslich sind. In absolutem Alkohol ist das Ba-Salz sehr schwer, das Ca-Salz etwas leichter löslich. Das Bariumsalz fällt aus wässeriger Lösung durch Alkoholzusatz in leichten Flocken, die sich unter Alkohol nach einiger Zeit zu einem schweren körnigen Pulver umwandeln. Die wässerigen Lösungen der Erdalkalisalze der Antoxyproteinsäure reagieren alkalisch. Auch das Cadmiumsalz ist aus der wässerigen Lösung durch Alkohol fällbar, dasselbe wird erhalten durch Schütteln der wässerigen Lösung der freien Säure mit Cadmiumhydroxyd. Das Silbersalz wird aus der wässerigen Lösung eines Alkali- oder Erdalkalisalzes durch eine Silbernitratlösung gefällt, welcher Niederschlag durch Wasserzusatz gelöst wird. In Alkohol ist das Silbersalz noch schwieriger löslich wie das Ba-Salz. Zur Darstellung des Silbersalzes empfiehlt es sich, das Natriumsalz durch Umsetzen mit Silbernitrat in das Silbersalz überzuführen, weil sowohl das Natriumsalz als auch das Natriumnitrit verhältnismässig leicht in verdünntem Alkohol löslich ist, während das Silbersalz aus wässeriger Lösung schon durch mässigen Zusatz von Alkohol ausgefällt wird. In trockenem Zustand ist das Silbersalz ziemlich lichtbeständig.

[1]) Kojo, Zeitschr. f. physiol. Ch. 73. 416. 1916. — M. Einhorn, M. Kahn und J. Rosenbloom, Arch. f. Verdauungskr. 17. 557. 1911.

Digitized by Google

3. Die Antoxyproteinsäure, sowie ihre Salze werden mit Quecksilbernitrat und mit Quecksilberacetat gefällt, durch letzteres Salz sogar aus stark mit Essigsäure angesäuerter Lösung. Bleiessig fällt die reine Antoxyproteinsäure nicht.

4. Aus konzentrierter Lösung wird die Säure durch Phosphorwolframsäure als anfangs flockiger, später zu einer klebrigen Masse zusammensinternder Niederschlag gefällt, welcher jedoch sowohl im Überschuss als auch in verdünnter Schwefelsäure und in Wasser sich ziemlich leicht löst.

5. Die Säure ist optisch aktiv und zwar ziemlich stark rechtsdrehend.

6. Die Säure gibt keine der charakteristischen Eiweissreaktionen (Biuret, Millon).

7. Die Säure gibt bei Anstellung der Diazoreaktion mit Diazobenzolsulfosäure nach Ehrlich die charakteristische carminrote Färbung, ebenso mit Paradiazoacetophenon nach Friedenwald.

B. Darstellung und Nachweis. Nach der Entfernung der Phosphorsäure mit Kalk, der Schwefelsäure mit Baryt und dem Ausfällen des Ca- und Ba-Überschusses mit CO_2 wird der Harn bis zur Konsistenz eines dünnen Sirupes in vacuo bei 55° eingeengt, durch abwechselndes Einengen und Erkaltenlassen und dabei erfolgende Krystallisation von einem grossen Teil des NaCl und einem Teil des Harnstoffes befreit und dann mit einem Alkoholäthergemisch (2:1) mehrere Male ausgezogen. Der in Alkoholäther unlösliche Rückstand wird in Wasser gelöst und behufs Entfernung der Alloxyproteinsäure mit Bleiessig gefällt. Der Bleiniederschlag dient zur Darstellung der Alloxyproteinsäure (s. dort). Zu dem Filtrat wurde nach dem Entfernen des Blei mit Natriumcarbonat, dem Neutralisieren mit Essigsäure, dem Einengen und schwachen Ansäuern mit Essigsäure eine 20%ige Lösung von Quecksilberacetat zugesetzt, so dass noch eine Fällung entstand. Der reichliche weisse Niederschlag wird auf einer Nutsche abfiltriert, durch wiederholtes Herausnehmen aus dem Trichter und Zerreiben mit Wasser in einem Porzellanmörser bis zum Verschwinden der Chlorreaktion im Filtrat gewaschen und dann mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das Filtrat vom Sulfid wird nach Verjagen des SH_2 mit einem Luftstrom nochmals mit Quecksilberacetat bei saurer Reaktion gefällt und der Niederschlag nach dem Auswaschen wieder mit SH_2 zerlegt. Der SH_2 wird verjagt wie oben, dann die Säure mit Barythydrat gebunden, nach Entfernen des überschüssigen Baryt mit Kohlensäure in Vacuo bis zur Sirupkonsistenz eingeengt und dann durch Eingiessen in konzentrierten Alkohol das Bariumsalz gefällt. Zur Entfernung des noch

Digitized by Google

anhaftenden Chlors wird entweder wiederholt mit Wasser gelöst und mit Alkohol umgefällt oder in das Ag-Salz übergeführt. Zu diesem Zwecke wird das Ba-Salz mit Natriumsulfat in das Na-Salz übergeführt und zwar möglichst vollständig, aber unter Vermeidung des geringsten Überschusses von Natriumsulfat. Dann wurde eine zur Ausfällung des anhaftenden Chlors eben ausreichende Menge Silbernitrat hinzugegeben, das Chlorsilber entfernt, das Filtrat mit einem Überschuss von Silbernitrat versetzt und dann mit Alkohol im Verhältnis 1:1 versetzt. Das Silbersalz wird anfangs mit 50%igem, dann mit 97%igem Alkohol und Äther gewaschen und im Vakuumexsikkator getrocknet. — Es stellte sich heraus, dass die so hergestellten Salze der Antoxyproteinsäure doch noch nicht frei waren von Alloxyproteinsäure. Zu noch reineren Präparaten gelangt man, wenn man das Barytsalz mit einer zur vollständigen Zerlegung unzureichenden Menge Schwefelsäure versetzt, dann im Vakuum bis zur Sirupkonsistenz einengt, dem Sirup mit absolutem Alkohol die freie Säure entzieht und dann durch Binden derselben an Baryt das Bariumsalz wieder herstellt. Dieses Bariumsalz gibt im Gegensatz zu dem ersten Präparat mit Bleiessig keine Fällung mehr.

II. Oxyproteinsäure[1]).

A. Eigenschaften. 1. Die Oxyproteinsäure hat die Zusammensetzung (aus der Analyse des Silbersalzes berechnet) C 39,62%, H 5,64%, N 18,08%, S 1,12%, O 35,54%. Der S wird beim Kochen mit Kalilauge wenigstens zum Teil als SH_2 abgespalten.

2. Von den Salzen ist das Barytsalz $C_{43}H_{74}N_{14}O_{31}SBa_4$ gut bekannt. Aus seiner wässerigen Lösung fällt es durch Alkohol in Flocken, welche bei längerem Verweilen unter Alkohol in harte, sandige Knollen und Kugeln ohne krystallinische Struktur übergehen. Es ist sehr hygroskopisch, in Wasser ungemein leicht löslich, in absolutem Alkohol schwer löslich. — Das Silbersalz lässt sich bereiten durch Umsetzung einer Lösung des oxyproteinsauren Na mit einer alkoholischen Lösung von Silbernitrat. Das oxyproteinsaure Silber ist viel leichter löslich in Wasser und Alkohol wie das antoxyproteinsaure Silber; auch weniger lichtbeständig und empfindlicher gegen Erwärmen. Durch Sublimat wird die freie Säure nicht gefällt, wohl aber durch salpetersaures oder schwefelsaures Quecksilberoxyd. Das Mercurisalz ist amorph und unlöslich.

3. Die Lösungen der oxyproteinsauren Salze sind optisch inaktiv.

[1]) Die folgenden Angaben sind der Arbeit von Bondzynski, Dombrowski und Panek (l. c.) entnommen.

Digitized by Google

Die Alkalisalze konnten in fester Form in analysenreinem Zustande nicht erhalten werden.

4. Phosphorwolframsäure schlägt die Oxyproteinsäure nicht nieder.

5. Die Säure gibt die Xanthoproteinprobe nicht, bildet beim Erwärmen mit bleihaltiger Lauge kein Schwefelblei und färbt sich mit Millonschem Reagens nur ganz schwach chamois. Die Biuretprobe gibt sie nicht, ebenso nicht die Ehrlichsche Diazoreaktion. Gegenteilige frühere Angaben von Bondzynski und Panek beziehen sich auf durch Antoxyproteinsäure verunreinigte Präparate.

6. Bei der Zersetzung mit Schwefelsäure liefert sie, wie die Peroxyproteinsäure, kein Tyrosin.

7. Die Oxyproteinsäure stellt anscheinend eine höhere Oxydationsstufe wie die Antoxyproteinsäure dar.

B. Nachweis und Darstellung. a) Nach Bondzynski und Gottlieb. Aus dem mit Baryt ausgefällten Harn wird sie mit anderen Substanzen durch Alkohol als Barytsalz niedergeschlagen. Zur Darstellung der Säuren bedienten sich Bondzynski und Gottlieb des folgenden Verfahrens.

Der Harn wurde bis fast zum Sirup eingedampft und der Rückstand mit Schwefelsäure (auf 1 Liter Harn 10 ccm 20%ige Schwefelsäure) und dem 5fachen Volumen Alkohol vermischt, das Filtrat mit viel Wasser verdünnt, mit Barythydrat im Überschuss versetzt, der überschüssige Baryt mit Kohlensäure entfernt, der Alkohol vertrieben und das Filtrat auf ein kleines Volumen eingeengt. Auf Zusatz von 4—6 Volumen Alkohol fallen reichlich Flocken, die nach einiger Zeit schmierig werden; nach dem Lösen in wenig Wasser und Fällen mit absolutem Alkohol bleibt aber der Niederschlag flockig und lässt sich gut absaugen. Nach dem Trocknen im Exsiccator bildet er ein gelbliches Pulver. Aus der wässerigen Lösung desselben wurde der Baryt mit Schwefelsäure entfernt, das Filtrat mit Mercurinitrat gefällt,

b) Nach Bondzynski, Dombrowski und Panek.

Der Harn wird direkt in vacuo eingedickt. Das lästige Schäumen lässt sich hierbei vermeiden, wenn man vorher eine geringe Menge Alkohol hinzusetzt und die Destillation unter fortwährendem Zufliessen der zu destillierenden Flüssigkeit verlaufen lässt und dabei Sorge trägt, dass der Destillierkolben nicht zu viel Flüssigkeit enthält. Der erhaltene dünne Harnsirup wurde bis zum Auftreten einer schwachen Blaufärbung an mit Kongorot gefärbten Papierstreifen mit verdünnter Schwefelsäure und darauf mit $1^1/_2$ Vol. Alkohol versetzt. Von ausgeschiedenen Alkalisulfaten wurde abfiltriert, die alkoholische Lösung mit Wasser verdünnt und mit Barytwasser gefällt, der Barytüberschuss gleich darauf mit CO_2 zur Ausfällung gebracht und die Flüssigkeit dann von dem gesamten Barytniederschlag abfiltriert. Das Filtrat wurde in vacuo bis zur Sirupkonsistenz gebracht und nach dem Entfernen eines grossen Teils des Natriumchlorid durch Auskrystallisieren in der Kälte

Digitized by Google

mit konzentriertem Alkohol gefällt. Der erhaltene Niederschlag von Bariumsalzen wurde nach dem Trocknen im Exsiccator in Wasser gelöst und die Lösung mit Bleiessig gefällt. Der Bleiniederschlag enthält die Körper der Alloxyproteinsäuregruppe und wurde zur Darstellung derselben benutzt. Das Filtrat dient zur Darstellung der Antoxyproteinsäure, vor allem aber zur Darstellung der mit Quecksilberacetat beim Neutralisieren fällbaren Verbindung. Aus dem Filtrate wurde das Blei durch Natriumcarbonat gefällt; die Essigsäure wird durch Äther ausgezogen; dies geschieht, indem das Filtrat vom Bleiniederschlag mit Essigsäure neutralisiert, eingeengt und nach dem Entfernen der Alkalimetalle durch Zusatz von $1^1/_2$ Volum Alkohol und Verjagen des Alkohols mit Äther im Ätherextraktionsapparat extrahiert wurde. Das mit Äther extrahierte essigsäurefreie Gemisch wurde in das Bariumsalz umgewandelt, welches mittels der Fällung mit Alkohol schliesslich in trockenem Zustand erhalten wurde.

In dieser ziemlich wörtlich wiedergegebenen Vorschrift befindet sich eine Unklarkeit. Bei der Entfernung der Essigsäure heisst es, man solle das Filtrat vom Bleiniederschlag mit Essigsäure neutralisieren. Es ist nicht ersichtlich, wie die gebundene Essigsäure durch Äther ausgezogen werden soll. Im Original steht, man solle vor der Extraktion die Alkalimetalle nach „der bereits bekannten Methode“ entfernen. Das kann sich nur auf die früher beschriebene Ausfällung mit $1\frac{1}{2}$ Volumen Alkohol beziehen. Ich vermute, dass die Vorschrift etwa folgendermassen lauten soll: Das Filtrat vom Bleiniederschlag wird mit verdünnter Schwefelsäure unter Benutzung von Kongopapier (s. oben) neutralisiert. Dann wird mit $1\frac{1}{2}$ Volumen Alkohol das Alkalisulfat entfernt und mit Äther extrahiert. Dann wird mit Baryt behandelt, der Barytüberschuss mit CO_2 entfernt, die Flüssigkeit von dem gesamten Barytniederschlag abfiltriert etc., wie oben. Es würde sich demnach darum handeln, mit dem Bleiniederschlag die gleiche Prozedur zu wiederholen, die mit dem ursprünglichen Harn vorgenommen worden war. Die Entfernung des Natriumacetates hat ausgesprochen den Zweck, die Fehlerquelle zu beseitigen, die dadurch entsteht, dass Natriumacetat die Fällung mit Quecksilberacetat hindert. In Abderhaldens Handbuch der Analyse hat Rona die Vorschrift wörtlich aus dem Original übernommen.

Das Präparat von Barytsalzen, welches frei sein soll von Natriumacetat, dient zur Fällung mit Quecksilberacetat. Eine wässerige Lösung wurde mit Essigsäure leicht angesäuert und mit einer 20%igen Lösung von Quecksilberacetat versetzt. Es entsteht ein reichlicher Niederschlag (viel reichlicher, wie der bei der Darstellung der Antoxyproteinsäure beschriebene); aus diesem Grunde wurde die veränderte Vorschrift gegeben. Noch reichlicher ist die Fällung beim Neutralisieren des Filtrates. Es wird abwechselnd bald die Lösung von Quecksilberacetat, bald eine Sodalösung so lange zugesetzt, als ein weisser Niederschlag noch ausfällt. Mit dem Erscheinen eines gelben Niederschlages wird die Fällung unterbrochen. Dieser Niederschlag besteht zum grössten Teil aus dem Quecksilbersalz der Oxyproteinsäure, welche sich als identisch erwies mit der von Bondzynski und Gottlieb beschriebenen Oxyproteinsäure.

Digitized by Google

Abgesehen von der guten Ausbeute, hat dieses Verfahren den Vorteil, dass die Quecksilberniederschläge wenig mit Chlor verunreinigt sind.

Die Reinigung der erhaltenen Salze der Oxyproteinsäure bot keine besonderen Schwierigkeiten. Schon die letzte Fraktion des bei saurer Reaktion ausgefallenen Quecksilberniederschlages erwies sich als aus einem mehr oder weniger reinen Salz der Oxyproteinsäure bestehend. Von den letzten Spuren anhaftender Antoxyproteinsäure liessen sich die Salze befreien durch Umfällen mit Quecksilberacetat, indem jedesmal die ersten Fraktionen jeder Fällung verworfen wurden, und dies so lange wiederholt wurde, bis die Präparate keine Diazoreaktion mehr gaben. Das reine Quecksilbersalz wurde schliesslich mit SH_2 zerlegt, nach dem Verjagen von SH_2 zum Entfernen der aus etwa mit ausgefallenem Quecksilberacetat entstandenen Essigsäure mit Äther ausgezogen und dann in das Ba-Salz oder Ag-Salz übergeführt, in der gleichen Weise wie bei der Antoxyproteinsäure beschrieben.

III. Die Alloxyproteinsäure.

A. Eigenschaften. 1. Die Säure hat die Zusammensetzung (aus der Analyse des Ag-Salzes berechnet) C 41,33%, H 5,70%, N 13,55%, S 2,19%, O 37,23%. Bondzynski und Panek hatten einen wesentlich höheren Schwefelgehalt gefunden und zwar ungefähr 6% auf die freie Säure berechnet. Der Unterschied wird darauf zurückgeführt, dass früher die Lösungen in offenen Schalen bei Luftzutritt eingedampft wurden, während jetzt im Vakuum eingeengt wird.

2. Die freie Alloxyproteinsäure ist sowohl in Wasser als auch in konzentriertem Alkohol leicht löslich und wird auch aus der alkoholischen Lösung durch Äther nicht ausgefällt. Die Salze sind in Alkohol schwerer löslich wie die der Antoxyproteinsäure und der Oxyproteinsäure.

3. Die Lösung des Bariumsalzes ist optisch inaktiv.

4. Durch Phosphorwolframsäure, Tannin, Ferrocyankalium und Essigsäure, sowie durch Eisenchlorid wird die Alloxyproteinsäure nicht gefällt. Sie wird dagegen gefällt durch Quecksilberacetat und Quecksilbernitrat.

5. Alloxyproteinsäure gibt die gewöhnlichen Eiweissreaktionen (z. B. die Biuretreaktion) nicht. Auch nicht die Ehrlichsche Diazoreaktion. Fehlingsche Lösung wird durch die Alloxyproteinsäure weder direkt noch nach dem Kochen mit Säure reduziert. — Die Säure enthält keinen Schwefel in Form von Schwefelsäure, dagegen durch Alkali als SH_2 abspaltbaren S.

Nach Liebermann[1]) enthält die „Alloxyproteinsäure“ aber tatsächlich doch Ätherschwefelsäure; sie ist nach ihm keine einheitliche Substanz. Durch Eisenalaun konnte er eine Substanz aus ihr isolieren, die sich wie Uroferrinsäure verhielt.

[1]) H. Liebermann, Zeitschr. f. physiol. Ch. 52. 133. 1907.

Digitized by Google

B. Nachweis und Darstellung. Nach Bondzynski, Dombrowski und Panek.

Als Ausgangsmaterial zur Darstellung dienten die Bleiniederschläge, welche bei der Gewinnung von Antoxyproteinsäure sowie von Oxyproteinsäure, von dem diese enthaltenden Filtrate getrennt werden. Die genannten, in reinen Lösungen durch Bleiessig nicht fällbaren Säuren werden von der Alloxyproteinsäure in nicht unbedeutenden Mengen mitgerissen, welche zunächst entfernt werden müssen. Dies geschieht durch fraktionierte Zerlegung des Bleiniederschlages mit Oxalsäure. Die Oxalsäure zerlegt nämlich in einem Gemisch der Bleisalze dieser Säuren zuerst die Salze der Oxyproteinsäuregruppe. Der Bleiniederschlag wird daher nach dem Auswaschen, wobei, um mit einer geringen Menge Wasser eine ergiebige Reinigung zu erzielen, ein Rührwerk benutzt wird, in zwei nacheinander folgenden Operationen anfangs mit einer sehr verdünnten Lösung von Oxalsäure, schliesslich mit einem Überschuss der Säure, und zwar ebenfalls unter stetem Umrühren, zerlegt. Die bei diesen Zerlegungsprozessen erhaltenen Filtrate wurden durch Binden der freien Säure mit Kalkhydrat, Entfernen des Kalküberschusses mit Kohlensäure, Einengen bei gelinder Wärme in vacuo und Fällen mit Alkohol auf das Calciumsalz der in Rede stehenden Säure verarbeitet. Während die erste geringe Fraktion eine intensive Diazoreaktion gab und offenbar stark mit Antoxyproteinsäure verunreinigt war oder zuweilen sogar, wie aus der Ba- und N-Bestimmung sich ergab, aus antoxyproteinsaurem Ca bzw. Ba bestand, enthielten die zweiten, grösseren Fraktionen, nach einer Umfällung mit Alkohol und Ausziehen mit Alkohol eventuell in einem Soxhletschen Apparat, nur Ca-Salze von mit Bleiessig fällbaren Verbindungen. Durch Zerlegen mit Oxalsäure, Filtrieren vom oxalsaurem Ca, Ausfällen des Oxalsäureüberschusses mit BaOH, Entfernen des überschüssigen BaOH mit CO_2 und Fällen des eingeengten Filtrates mit konzentriertem Alkohol wird das Ca-Salz in das Ba-Salz umgewandelt.

Ausser den hier beschriebenen drei Proteinsäuren beschreiben Bondzynski, Dombrowski und Panek noch eine vierte Säure, die sie mit dem Harnfarbstoff, dem Urochrom, in Beziehung bringen. Näheres siehe bei Urochrom.

IV. Die Uroferrinsäure von Thiele[1]).

A. Vorkommen. Nachdem schon früher von Salkowski, Thudichum, Siegfried Beobachtungen über mit Eisensalzen fäll-

[1]) O. Thiele, Zeitschr. f. physiol. Ch. 37. 251. 1903. — E. Salkowski, Pflügers Archiv 2. 351. 16. 306; — Thudichum, Ebenda 15. 433. 1877. — M. Siegfried, Zeitschr. f. physiol. Ch. 27. 345. 1894.

Digitized by Google

bare Stoffe im Harn gemacht waren, gelang es Thiele, einen derartigen Stoff näher zu charakterisieren. Er nannte ihn Uroferrinsäure.

B. Eigenschaften. Die Uroferrinsäure hat die Formel $C_{35}H_{56}N_8SO_{19}$, entsprechend der Zusammensetzung C 45,45 %, H 6,08 %, N 12,12 %, S 3,46 %.

2. Die Säure stellt durch Äther gefällt ein lockeres, weisses Pulver dar, das nur wenig hygroskopisch ist, sich jedoch äusserst leicht in Wasser, gesättigter Ammoniumsulfatlösung und auch in trockenem Methylalkohol löst. In absolutem Alkohol ist die Uroferrinsäure schwer löslich. In Benzol-Chloroformäther, Essigäther, Petroläther ist sie unlöslich. Krystallisiert wurde sie nicht erhalten.

3. Der Schwefelgehalt ändert sich nicht bei Behandlung mit SH_2, wohl aber wird derselbe erhöht bei Behandlung mit reichlich Schwefelammonium. Etwa die Hälfte des Schwefels kann bei längerem Kochen mit starker Salzsäure als Schwefelsäure abgespalten werden. Die Uroferrinsäure zeigt also das Verhalten einer Ätherschwefelsäure. Alkalische Bleioxydlösung spaltet keinen Schwefel ab. — Liebermann[1]) fand bei direkter Bestimmung, dass der Ätherschwefelsäuregehalt von Thiele tatsächlich etwas zu hoch angegeben ist.

3. Die Substanz reagiert stark sauer, sie zerfliesst auf der Zunge und hinterlässt einen unangenehm bitteren Geschmack.

4. Das Zinksalz ($C_{35}H_{50}N_8SO_{19}Zn_3$) und das analoge Ba-Salz sind beide in Wasser sehr leicht löslich; sie werden aus konzentrierter wässeriger Lösung von absolutem Alkohol in rein weissen Flocken gefällt.

5. Die Säure gibt folgende Reaktionen: Millon, Biuret, Adamkiewicz, Molisch sind negativ. Phosphorwolframsäure erzeugt schon in verdünnten wässerigen Lösungen weisse, voluminöse Niederschläge. Quecksilbernitrat und Quecksilbersulfat erzeugen schon in stark verdünnten Lösungen bedeutende, in weissen Flocken ausfallende Niederschläge, während Sublimat und auch Pikrinsäure keine Niederschläge geben. Metaphosphorsäure fällt nicht. Eisenchlorid, Silbernitrat, Bleiacetat rufen erst in ziemlich konzentrierter Lösung Trübungen hervor.

6. Im Gegensatz zur Chondroitinschwefelsäure ruft Uroferrinsäure weder direkt noch nach Zusatz von Essigsäure in Eiweisslösungen Fällungen hervor.

7. Die Uroferrinsäure ist optisch aktiv und zwar linksdrehend und annähernd $[\alpha_D]^{18} = -32{,}5$.

8. Beim Erhitzen mit Säure im Rohr oder beim Kochen mit Salzsäure und Zinnchlorür liessen sich neben melaninartigen Stoffen Kohlen-

[1]) H. Liebermann, Zeitschr. f. physiol. Ch. 52. 142. 1907.

Digitized by Google

säure, Ammoniak, Schwefelsäure (s. oben), Äthylsulfid (?), Schwefelwasserstoff, mit Sicherheit Asparaginsäure nachweisen. Arginin, Histidin, Xanthinbasen fehlten.

O. Bondzynski, Dombrowski und Panek halten die Uroferrinsäure für aus der Alloxyproteinsäure bezw. dem Urochrom durch Säurewirkung entstanden. Liebermann stellte eine Uroferrinsäure dar unter Vermeidung des Erwärmens mit Säure. Auch in dieser Säure liess sich qualitativ Ätherschwefelsäure nachweisen.

C. Darstellung. 1500 Liter Harn wurden auf dem Wasserbade bei 40—50^0 unter Zusatz von etwas Ammoniak und zur Verhinderung der Fäulnis während des Eindampfens von Chloroform oder Thymol auf ca. 60 Liter konzentriert. Der dickflüssige Sirup wurde portionenweise mit 80 Liter 90 %igem Alkohol bei gewöhnlicher Temperatur drei Stunden lang kräftig durchgerührt, worauf die Flüssigkeit abgesaugt und der Niederschlag nochmals mit der doppelten Menge seines Gewichtes an 60 %igem Alkohol extrahiert wurde. Nunmehr wurde die weitaus grösste Menge des Alkohols auf dem Wasserbad bei mässiger Temperatur vertrieben. Das vorher mit Schwefelsäure genau neutralisierte Extrakt wurde mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und dann so lange mit einer wässerigen Lösung von Eisenammoniakalaunlösung versetzt, als eben noch ein Niederschlag entstand. Ein Überschuss des Fällungsmittels ist zu vermeiden. Von dem Eisenniederschlag wird abgesaugt und, nachdem die Flüssigkeit durch Erwärmen auf dem Wasserbad bei 40^0 vom Alkohol ganz befreit ist, mit Ammoniumsulfat bei 40^0 gesättigt. Zum Sättigen waren etwa 100 kg Ammoniumsulfat erforderlich. Der bis zur Chlorfreiheit mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung gewaschene Niederschlag, welcher die Uroferrinsäure enthält, wurde mit verdünnter Schwefelsäure gelöst, durch gelindes Erwärmen mit starkem Ammoniak vom Eisen befreit. Filtrat und Waschwasser des Eisenhydroxydniederschlages, welche zusammen etwa 70 Liter betrugen, wurden neutralisiert und mit etwa 50 kg Ammoniumsulfat wieder gesättigt. Nunmehr wurde zur Entfernung der mit Schwefelsäure entfernbaren Schmieren so lange eine Mischung von drei Teilen gesättigter Ammoniumsulfatlösung und ein Teil konzentrierter Schwefelsäure zugegeben, als noch eine Trübung entstand. Es fielen grosse weisse Flocken aus, die sich aber bald gelb bis gelbbraun färbten. Nach dem Abfiltrieren wurde aus der schwach sauren Flüssigkeit mittelst ammoniumsulfatgesättigter Eisenammoniakalaunlösung wieder ausgefällt, der Niederschlag abgesaugt, auf der Nutsche mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung gewaschen und dann mit einer gerade ausreichenden Menge von 50 %iger Schwefelsäure unter längerem Durchrühren gelöst.

Digitized by Google

Die schwefelsaure Flüssigkeit, welche den zweimal gefällten Eisenniederschlag gelöst enthält, wurde mit dem doppelten Volum 96%igen Alkohols im Scheidetrichter kräftig durchgeschüttelt. Nach kurzer Dauer bilden sich beim Stehenlassen zwei Schichten, deren untere abgelassen und zum zweiten Male mit 50%iger Schwefelsäure zur gänzlichen Lösung noch nicht zersetzter Partikelchen verrührt wird, worauf die Flüssigkeit nochmals mit 96%igem Alkohol im Verhältnis 1:3 geschüttelt wird. Die gewonnenen oberen alkoholischen Schichten wurden mit konzentriertem Ammoniak bis zur neutralen Reaktion versetzt, wodurch ein gelblichweisser Niederschlag, der im wesentlichen aus Ammoniumsulfat bestand, ausgefällt wurde. Derselbe wurde abgesaugt und dreimal mit 90%igem ammoniakalischem Alkohol gewaschen. Filtrat mit Waschflüssigkeit wurden dann durch Vakuumdestillation vom Alkohol befreit. Die zurückbleibende Flüssigkeit enthält nur noch geringe Mengen von Fe und von Schwefelsäure. Ein Teil des Eisens wurde noch entfernt, indem zu der Flüssigkeit 60 ccm Barytlösung gegeben wurden und dann sofort CO_2 eingeleitet wurde bis zur neutralen Reaktion. Die Flüssigkeit wurde nach dem Filtrieren zu Sirupkonsistenz eingeengt, der klare Sirup (ca. 250 ccm) wurde mit dem zehnten Teil seines Gewichtes an Eisessig versetzt und dann sofort, also ohne ihn vorher mit Alkohol zu verdünnen, unter kräftigem Umrühren in ca. 10 Liter absoluten Alkohol langsam eingetropft. Die Substanz, welche sich in hellbraunen Flocken rasch zu Boden senkte, wurde abgesaugt, mit Alkohol tüchtig ausgewaschen und im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet. Die Ausbeute betrug 30 g.

V. Die stickstoffhaltige Säure von Hári.

A. Vorkommen. Dieselbe wurde als Zink-, Silber- und Cadmiumverbindung von Hári[1]) aus normalem Menschenharn dargestellt. Der Körper wurde nur in seinen Verbindungen isoliert.

B. Eigenschaften. 1. Die genannten Verbindungen sind in Wasser und Alkohol kaum, in Äther, Chloroform, Benzol, Petroläther gar nicht löslich. Die Zink- und die Cadmiumverbindungen sind dagegen leicht löslich in verdünnten Säuren und Alkalien. Frisch gefällt und in Wasser aufgeschwemmt ist die Zinkverbindung sogar löslich durch Einleiten von CO_2.

2. Die Elementaranalyse der Verbindungen führte übereinstimmend zu der Formel $C_{30}H_{45}N_{12}O_{13}$, richtiger $C_{30}H_{44}N_{12}O_{13}$ oder $C_{30}H_{46}N_{12}O_{13}$.

[1]) P. Hári, Orvosi Archivum **6**. 585. 1904; Zeitschr. f. physiol. Ch. **46**. 1. 1905.

Digitized by Google

Die Zusammensetzung des Zn-Salzes entspricht der Formel $C_{30}H_{37}N_{12}O_{13}Zn$. In mehreren Präparaten der Zinkverbindung liess sich etwas Schwefel (0,3—0,5 %) nachweisen. Es ist unentschieden, ob dieser Schwefel der Verbindung angehört oder einer Verunreinigung.

C. Darstellung nach Hári. 10—20 Liter frischer Harn werden ohne vorheriges Ansäuern mit einer 10 % igen Lösung von Phosphorwolframsäure gefällt. Der Niederschlag wird auf dem Filter gewaschen, sodann mit Ätzbaryt zersetzt und aus dem in Lösung gegangenen Anteil Baryt durch CO_2 entfernt. Die Entfernung des Baryt wird am besten sofort vorgenommen, da bei längerem Stehen die Ausbeute sich verringert. Das Filtrat wird nun auf dem Wasserbad zu einem eben noch feuchten krystallinischen Brei eingedampft, und der braune, eigentümlich riechende Rückstand mit 96 % igem Alkohol zunächst einige Stunden hindurch digeriert, nachher heiss extrahiert und schliesslich das alkoholische Extrakt stark eingeengt. Aus diesem fallen nach dessen Erkalten hauptsächlich aus Kreatinin bestehende Krystallmassen aus; die von diesem abgegossene und filtrierte, dunkelbraune, alkoholische Lösung wird mit überschüssigem Äther versetzt, wobei eine gelblich-weisse Emulsion entsteht. Aus dieser scheidet sich nach wenigen Minuten schon eine dickflüssige, gelbbraune Schichte ab, die — nach dem Abgiessen der Hauptmasse des Äthers und nach vorsichtigem Verjagen seiner letzten Spuren — in wenig Wasser gelöst eine braune, intensiv alkalisch reagierende Flüssigkeit darstellt. Diese Flüssigkeit wird mit einer Lösung eines Zinksalzes, Silbersalzes oder Cadmiumsalzes versetzt. Es entstehen dann voluminöse, gelbbraune Niederschläge, die auf der Nutsche gesammelt, gut ausgewaschen, anfangs bei Zimmertemperatur im Vakuum über Schwefelsäure, nachher im Trockenschrank bei 98—99° oder bei 60° im Vakuum getrocknet werden.

VI. Der polypeptidartige Körper von Abderhalden und Pregl.

A. Vorkommen und Eigenschaften. Aus Menschenharn lässt sich in nachstehend beschriebener Weise ein Sirup, bestehend aus schwer dialysierbaren Stoffen gewinnen, der keine Aminosäuren mehr enthält, der aber bei der Hydrolyse mit Salzsäure mit der „Estermethode" reichlich Aminosäuren liefert. Es liessen sich feststellen: viel Glycocoll, Alanin, Leucin, Glutaminsäure, Phenylalanin und wahrscheinlich Asparaginsäure; viel Huminsubstanzen. Es handelt sich nach der Ansicht von Abderhalden und Pregl[1]) um einen polypeptidartigen Körepr,

[1]) E. Abderhalden und F. Pregl, Zeitschr. f. physiol. Ch. 46. 19. 1905.

Digitized by Google

um einen Abkömmling der Eiweissstoffe, der dem totalen Abbau im Stoffwechsel entgangen ist.

B. Darstellung. Der Trockenrückstand von menschlichem Harn, in dem weder mit Esbachs Reagens noch mit konzentrierter Salpetersäure Eiweiss nachgewiesen werden konnte, wurde mit absolutem Alkohol extrahiert und aus dieser Lösung durch Eintragen von gepulverter Oxalsäure die Hauptmasse des Harnstoffes entfernt. Aus dem Filtrat vom Harnstoffoxalat wurde die überschüssige Oxalsäure mit Baryt und aus dem neuerlichen Filtrat der Baryt mit Schwefelsäure gefällt. Durch mehrtägige Dialyse des Filtrates vom Bariumsulfat wurden die letzten Reste krystallinischer Substanzen möglichst entfernt. Nach dem Einengen der dialysierten Flüssigkeit auf ein kleines Volumen stellt dieses Präparat eine durchsichtige bräunliche, sirupöse Flüssigkeit dar. — Durch Schütteln der alkalischen Flüssigkeit mit β-Naphthalinsulfochlorid lässt sich zeigen, dass die Flüssigkeit keine freien Aminosäuren mehr enthält.

C. Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Oxyproteinsäurefraktion.

Die Bestimmung der Gesamtmasse der hier in Betracht kommenden N-haltigen Säuren des Harns hat, wie oben auseinandergesetzt, klinisches Interesse gewonnen. Es handelt sich nicht um exakte Bestimmungsmethoden, sondern um Isolierungen dieser Fraktion und Berechnung der Menge aus dem N-gehalt. Bei der Schwierigkeit der Isolierung können kleine Abweichungen beträchtliche Differenzen in der Ausbeute bedingen. Es sind daher nur Werte vergleichbar, die nach dem gleichen Verfahren gewonnen sind. Es kommen folgende Verfahren in Betracht. Das Verfahren von Gawinski, das von Ginsberg, das von Salomon und Saxl, die Methoden von Kojo, das Alkoholverfahren Salkowskis.

I. Das Verfahren von Salomon und Saxl[1]).

Die Methode beruht darauf, dass zunächst aus dem eingeengten Harn die Säuren als Barytverbindungen durch Alkohol-Äther ausgefällt werden. Diese Barytverbindungen werden mit Quecksilberacetat und Soda gelöst und dann die Hg-Verbindungen der Proteinsäuren gefällt. In den Niederschlägen wird dann der Stickstoff bestimmt und mit dem Gesamtstickstoff in Relation gebracht.

250 ccm Harn — gleichgültig ob der Tagesmenge entnommen oder ob einer Teilmenge entsprechend — werden bei neutraler Reaktion auf-

[1]) H. Salomon u. P. Saxl. Harnbefund bei Carcinomatösen. Beiträge zur Carcinomforschung. Aus I. med. Klinik in Wien. Verlag Urban u. Schwarzenberg 1910. 41.

Digitized by Google

gekocht, filtriert und mit heissgesättigter Lösung von Bariumhydroxyd gefällt. Das Bariumhydroxyd werde wirklich in siedendem Wasser bis zur Sättigung gelöst. Man benötigt zur Ausfällung gewöhnlich 500 ccm einer auf diese Weise gesättigten Lösung auf 250 ccm Harn. Nach Absetzen des Niederschlages überzeugt man sich von der Vollständigkeit der Fällung. Sodann zersetze man den Überschuss des Bariumhydroxyds durch Einleiten von Kohlensäure. Man lasse so lange Kohlensäure einlaufen, bis die Reaktion neutral wird. Sodann erhitze man stark und filtriere heiss einen möglichst grossen aliquoten Teil ab (600 ccm). Beim Erhitzen wird die Reaktion in der Regel wieder deutlich alkalisch. Man leite nun in das Filtrat abermals Kohlensäure ein, bis die Reaktion wieder neutral ist, erhitze zum Sieden und filtriere so heiss wie möglich. Die Ausfällung mit Kohlensäure muss möglichst sorgfältig geschehen, da sonst beim späteren Eindampfen Bariumsalze ausfallen, die später störend einwirken, da bei stärkerer Konzentration Baryt hydrolysierend wirkt. Nun dampfe man zunächst auf freier Flamme, dann auf dem Wasserbade auf ein Volum von 40—50 ccm ein. War die Kohlensäureausfällung korrekt und ist nach dieser heiss filtriert worden, so bleibt die Flüssigkeit hierbei klar. Ist auf 40—50 ccm eingeengt (Kontrolle im Messzylinder!), so giesse man die eingeengte Flüssigkeit in ein Gemisch von wasserfreiem Äther und 95%igem Alkohol (1:2), von welchem man 100 ccm nimmt, wobei man mit 10 ccm destilliertem Wasser nachwasche. Man verschliesse gut, schüttle gut durch und lasse 24 Stunden stehen, wobei es sich empfiehlt, anfänglich etwa jede Stunde einmal kräftig durchzuschütteln. Es fällt ein in der Flüssigkeit schwebender, mehr oder minder feiner und beweglicher Niederschlag aus. Bei Abweichungen von der Vorschrift, z. B. zu starkem Einengen, legt sich dagegen ein sirupöser Niederschlag an die Wandung des Gefässes an. Eine derartige Bestimmung soll nicht verwertet werden. — Nach 24stündigem Stehen filtriere man den Ätheralkohol ab, wasche sorgfältig mit Ätheralkohol (1:2) nach; den Rückstand nehme man in 1 Liter Wasser auf. War die Kohlensäureausfällung korrekt, so löst sich der Rückstand klar und vollständig. Nun teile man in zwei Hälften und führe in beiden die Bestimmung zu Ende.

Man fällt mit heissgesättigter Quecksilberoxydacetatlösung und 10%iger Sodalösung, beides abwechselnd in geringen Mengen zusetzend, bis ein dauernd rötlich gefärbter Niederschlag auszufallen beginnt. Nun wird der Niederschlag abfiltriert und in ihm der N-gehalt nach Kjeldahl bestimmt, wobei nicht mit Kupfersulfat, sondern mit metallischem Quecksilber oxydiert werden muss. Den Sulfidzusatz vor der Destillation nicht ausser Acht lassen! (S. S. 486.) Ferner wird in 10 ccm Harn der Gesamt-N bestimmt.

Digitized by Google

II. Das Verfahren von Ginsberg[1]). Das Verfahren beruht auf dem gleichen Prinzip, wie das von Salomon und Saxl. 1000 ccm Harn, dessen Gesamt-N-Gehalt bekannt ist, werden mit heissgesättigter Barytlösung im Überschuss gefällt, durch CO_2 vom Barytüberschuss befreit, ein aliquoter Teil heiss abfiltriert und bis zum dünnen Sirup eingeengt. In diesem starken Einengen besteht der Hauptunterschied gegenüber dem Verfahren von Salomon und Saxl. Der Sirup wird nach dem Prinzip von Mörner-Sjöquist mit Ätheralkohol 1 : 2 erschöpft, d h. nach Zusatz des 20fachen Volumen Ätheralkohols durchgeschüttelt und während 24 Stunden stehen gelassen in verschlossenem Gefäss. Der Niederschlag oder Sirup, von dem abgegossen, eventuell abfiltriert wurde, wird mit Ätheralkohol nachgewaschen und dann in Wasser gelöst. Mit dieser Lösung wird verfahren wie bei Salomon und Saxl. Diese Lösung, bzw. die „Barytfraktion", enthält anscheinend nur die Ba-Salze der drei Proteinsäuren und einen zurzeit unbekannten N-haltigen Rest. Die „Barytfraktion" ist frei von Harnstoff, Harnsäure, Ammoniak, Kreatinin und Hippursäure.

Ginsberg erhielt nach seinem Verfahren, wie oben erwähnt, wesentlich höhere Werte wie Salomon und Saxl.

III. Das Verfahren von Gawinski[2]). Das Verfahren beruht auf der Isolierung der Proteinsäuren als Barytverbindungen und Bestimmung des Stickstoffs in diesem Bariumsirup. 1 L Harn wird nach leichtem Ansäuern mit Essigsäure im Vakuumapparat bei 55° zum dünnen Sirup eingeengt. Dann wird verdünnte Schwefelsäure zugesetzt bis zum Erscheinen eines Farbenumschlages an mit Kongorot gefärbtem Papier, um die organischen Säuren frei zu machen, und mit dem 2—3fachen Volum absoluten Alkohol die Sulfate gefällt. Es wird abgesaugt und mit 75%igem Alkohol gewaschen. Die alkoholische Flüssigkeit, welche die freien Proteinsäuren enthielt, wurde mit dem 2—3 fachen Volum Wasser verdünnt und mit Barythydrat bis zum geringen Überschuss versetzt. Es entstand ein Niederschlag, welcher schwefelsaures, phosphorsaures und harnsaures Baryt enthielt. Im Filtrat befanden sich die Proteinsäuren als Barytverbindungen. Nach dem Entfernen des Baryts aus der alkalischen Flüssigkeit mit CO_2 wird das Filtrat im Vakuum bis zur dicken Sirupkonsistenz eingeengt und der letztere mit Alkohol-Äthermischung (s. oben) extrahiert, zur Entfernung des Harnstoffes. Der dunkelgefärbte, unlösliche, schmierige Rückstand wurde nach 24 Stunden durch Dekantieren (eventuell Filtrieren) vom Alkohol-Äther getrennt, dann in einer kleinen Menge lauen Wassers gelöst. Die Lösung wurde nach Zusatz von geglühtem Seesand in Hofmeisterschen Glasschalen in Portionen von etwa 10 ccm bis zur Trockne gedampft. Dann wurde im Mörser zerrieben und die ganze Masse in Papierdüten im Soxhletschen Apparat mit Alkohol ausgezogen. Nach 3—5stündiger Extraktion mit dem absoluten Alkohol wurde der Inhalt der Düte sorgfältig mit lauem Wasser ausgelaugt, die erhaltene Lösung filtriert und auf ein bestimmtes Volum (100 ccm) gebracht. Da sich der N dieser Lösung durch Quecksilberacetat vollständig ausfällen lässt, so wurde auf diese Ausfällung verzichtet und der „Barytsirup" direkt zur Stickstoffbestimmung benutzt.

Die von Gawinski erhaltenen Werte sind ähnlich wie die von Ginsberg erhaltenen, also auch wesentlich höher, wie die von Salomon und Saxl.

IV. Bleiverfahren von Kojo. Die von Kojo angegebenen Verfahren verzichten ebenso wie das Alkoholverfahren von Salkowski (s. S. 469), auf Reindarstellung der Oxyproteinsäurefraktion. 100 ccm frischer Harn werden durch vorsichtigen Zusatz von alkalischer Chlorbariumlösung (Gemisch von 1 Teil 10%iger Chlorbariumlösung und 2 Teilen kaltgesättigtem Barytwasser) genau ausgefällt, nach 15 Minuten von dem entstandenen Niederschlag von Bariumphosphat und

[1]) W. Ginsberg, Hofmeisters Beiträge **10**. 411. 1907.

[2]) W. Gawinski, Zeitschr. f. physiol. Ch. **58**. 454. 1909. — Eine vorläufige Mitteilung hat Gawinski schon 1907 gemacht und zwar vor dem Erscheinen der Arbeit von Ginsberg.

Digitized by Google

Bariumsulfat abfiltriert und mit Wasser dreimal nachgewaschen. Das Waschwasser (vom Filtrate getrennt aufgefangen) wird bis zu ca 10 ccm eingedampft und dem Filtrate hinzugefügt. Dann wird mit Essigsäure genau neutralisiert (eher etwas alkalisch gehalten), darauf setzt man dem Filtrat käufliche Bleisubacetatlösung (Liq. Plumbi subacet. Ph. IV) zu, so lange, bis kein Niederschlag mehr entsteht. Je nach der Konzentration des Harns ist die Menge Bleisubacetat natürlich verschieden, bei 1015 spez. Gewicht sind etwa 30—35 ccm des Reagens erforderlich. Nach etwa 1/4 Stunde filtriert man durch ein angefeuchtetes Filter, bringt den Niederschlag mit dem Gummiwischer vollständig aufs Filter, wäscht mit lauwarmen Wasser nach, bis das Waschwasser mit Merkurinitrat keine Reaktion auf Harnstoff mehr gibt. Das Filter wird dann durchstossen, der Niederschlag in eine Abdampfschale gespritzt, das Filter zuerst mit 25 ccm verdünnter Schwefelsäure (1:5), dann mit Wasser nachgewaschen; schliesslich wird die Lösung auf dem Wasserbad bis etwa 20 ccm eingedampft, dann spült man die Flüssigkeit in einem Kjeldahlkolben, setzt 10 ccm conc. H_2SO_4 und 0,4 g HgO hinzu und bestimmt den N wie gewöhnlich.

Man berechnet wie viel % des Gesamtstickstoffs der fällbare Stickstoff beträgt.

V. Das Zinkverfahren von Kojo. 100 ccm frischer Harn werden durch vorsichtigen Zusatz von Kalkmilch schwach alkalisiert, mit Chlorkalzium genau ausgefällt (alkal. Chlorbariumlösung ist auch verwendbar, wenn die spätere Fällung mit Zinkchlorid vorgenommen wird), nach 1/4 Stunde von dem Niederschlag von Ca-Phosphat abfiltriert, mit Wasser dreimal nachgewaschen; das Filtrat wird mit Essigsäure versetzt, so dass die Reaktion schwach alkalisch bleibt. Ist die Reaktion etwas zu stark alkalisch, so bekommt man später beim Zusatz von Zinklösung eine grössere Menge von Zinkniederschlag, aus welcher der Harnstoff sehr schwer ausgewaschen werden kann. Man setzt dann dem Filtrat 10 %ige wässerige Zinksulfatlösung oder Zinkchloridlösung so lange hinzu, bis kein Niederschlag mehr entsteht, die Reaktion darf jedoch auf keinen Fall sauer werden. Harn von 1015 spez. Gewicht erfordert etwa 30 ccm Zinklösung. Nach etwa 1/4 Stunde filtriert man durch ein angefeuchtetes Filter, wäscht mit Wasser sorgfältig nach, bis das Wasser keine Harnstoffreaktion mehr gibt (mit Mercurinitrat). Der auf dem Filter gebliebene Niederschlag wird (wie oben angegeben) in eine Abdampfschale gespritzt (oder auch direkt in den Kjeldahl-Kolben) und dann wie oben weiter behandelt.

Das Zinkverfahren hat vor dem Bleiverfahren den Vorteil, dass der Harnstoff sich leichter aus dem Niederschlag auswaschen lässt.

VI. Das direkte Verfahren von Kojo. Harn wird (ohne Entfernung der Phosphorsäure) mit Na_2CO_3 schwach alkalisiert und dann 10%ige Lösung von Zinksulfat oder Zinkchlorid hinzugefügt. Es wird filtriert, nachgewaschen und der Niederschlag dann nach Kjeldahl verarbeitet.

Die Werte sind etwas höher wie nach dem „Bleiverfahren" und „Zinkverfahren", aber in ganzen Reihen von normalen Harnen und Karzinomharnen immer konstant.

Die Menge des nach dem „direkten Verfahren" fällbaren Stickstoffs ist abhängig von dem Grade der Alkaleszenz. Da in der Vorschrift von Kojo nur steht, man solle „schwach alkalisieren", so bedarf die Vorschrift der Ergänzung. Man bekommt bei wechselnder Alkaleszenz stark voneinander abweichende Werte. Trotz zahlreicher Versuche in dieser Richtung bin ich noch nicht zu einem abschliessenden Ergebnis gekommen. Auch gegen das „Zinkverfahren" und das „Bleiverfahren" habe ich Bedenken. (Schulz).

VII. Das Alkoholverfahren von Salkowski[1]) (s. auch S. 469). 100 ccm Harn (bei Harn von höherem spez. Gew. wie 1015 nur 50 ccm) werden auf dem Wasserbad auf ein kleines Volumen (ca. 10 ccm) eingeengt. Der Harn muss frisch, eiweissfrei und sauer sein. Reagiert er nicht sauer, so säuert man ihn mit einigen Tropfen Essigsäure an. Nach völligem Erkalten wird in derselben Schale

[1]) E. Salkowski, Berl. klin. Wochenschr. 47. 1748. 1910.

Digitized by Google

mit absol. Alkohol gefällt. Es ist sorgfältig darauf zu achten, dass der Schaleninhalt flüssig, nicht krystallinisch erstarrt ist, denn in diesem Fall ist die völlige Entfernung des Harnstoffs unmöglich. Der Zusatz des Alkohols geschieht allmählich unter ständigem Umrühren. Man filtriert nach 1 Stunde durch ein Filter von etwa 14 cm Durchmesser (Schleicher n. Schüll 597), wäscht mit Alkohol absolut. unter sorgfältiger Berücksichtigung des Filterrandes, bis der Waschalkohol frei von Harnstoff ist. Um das zu prüfen, werden 10 ccm des Waschalkohols verdunstet, der Rückstand in einigen ccm Wasser gelöst und zu der Lösung im Reagensglas etwa das gleiche Volum verdünnter Bromlauge hinzugegeben. Die Bromlauge muss öfters frisch bereitet werden, indem man wenige ccm Brom in etwa 20 ccm Natronlauge löst und dann das mehrfache Volum Wasser hinzugibt. Falls noch Harnstoff in dem Waschalkohol vorhanden ist, macht sich beim Umschütteln eine Entwicklung von Stickstoffblasen bemerkbar. Eine Unterbrechung des Auswaschens ist unzulässig. Trocknet der Niederschlag auf dem Filter an, so ist die völlige Entfernung des Harnstoffs unmöglich. Nach beendigtem Auswaschen löst man den in der Schale gebliebenen Rückstand in wenig lauwarmem Wasser, giesst dieses auf das Filter und wäscht das Filter gründlich mit warmem Wasser nach. Ist das Volum nicht zu gross geworden, so macht man direkt eine N-Bestimmung nach Kjeldahl, andernfalls engt man vorher ein. Man legt an Säure soviel vor, wie zur Bindung des Gesamt-N aus 10 ccm Harn (bzw. aus 5 ccm) erforderlich ist.

Das Verfahren erfordert Übung und liefert leicht zu hohe Werte für den Proteinsäurestickstoff. (Salkowski bezeichnet den nach seinem Verfahren bestimmten N als KN = kolloidaler Stickstoff.)

Anhang.

Die Diazoreaktion.

A. Auftreten.

Ausgehend von der Griesschen Entdeckung der Diazofarbstoffe fand Ehrlich, dass im Harn Stoffe enthalten sind, die mit Sulfanilsäure (Para-Amidobenzolsulfosäure) schöne Färbungen geben. Die Reaktion ist vielfach modifiziert worden; es hat sich eine umfangreiche Literatur über diese Reaktion gebildet. Huber[1]) zitiert 261 Abhandlungen über die Diazoreaktion im Harn.

Ehrlich vertrat zunächst die Meinung, dass bei gesunden Menschen die Reaktion sich nie finde, dass sie also stets ein Zeichen von Erkrankung sei.

Dieser Meinung treten auf Grund zahlreicher Beobachtungen bei Georgerski, Escherich, Brecht, Löwinson, Dohrendorff, Spickoff, Löwe, Lenhartz, Michaelis, Biring, Clemens, Barde, Janeso, Baccarini-Cevidalli, Camúrri, Brehmer, Cnopf, Sée, Pape, von Noorden, Friedenwald, Jez, Umikoff, Engeland[2]). Alle diese Beobachter fanden nie ausgesprochene Rotfärbung, wohl aber ausgesprochene gelbe und orange Färbungen.

[1]) J. P. Griess, Ber. d. chem. Gesellsch. 11. 1856. 1878. — P. Ehrlich, Zeitschr. f. klin. Med. 5. 285. 1882. — E. Huber, Die Ehrlichsche Diazoreaktion. Eine Monographie mit Beiträgen über den Ausfall der Reaktion bei gesunden und kranken Tieren. Diss. Bern. 1910. Dort umfassende Besprechung der gesamten Literatur.

[2]) P. Ehrlich, Zeitschr. f. klin. Med. 5. 285. 1882. — Charité-Annalen S. 140. 1883. — med. Wochenschr. 9. 549. 1883. — Georgiewsky, Jahresber. f.

Digitized by Google

Diesen Beobachtungen stehen Angaben von Penzoldt gegenüber, der (mit von der Ehrlichschen Vorschrift abweichenden Methode) unter 72 normalen Harnen 14 mal rote, 30 mal gelbrote, 27 mal rotgelbe, 1 mal gelbe Färbung hatte. Bei besseren Ständen angehörigen Gesunden schien die Färbung dunkler zu sein, bei Soldaten ergaben sich an den einzelnen Tagen Schwankungen. Petri fand auch bei 20 Gesunden rote Reaktion. Auch Karthin[1]) fand im Harn Gesunder positive Reaktion. — Nach den Erfahrungen über die Antoxyproteinsäure (s. dort) ist anzunehmen, dass zwischen normalen und abnormen Harnen nur ein gradueller Unterschied besteht.

Beim Hund fand Huber[2]) ähnliche Verhältnisse wie beim Menschen. Bei erwachsenen Herbivoren (Pferd, Rind, Schaf, Ziege, Kaninchen) ist die Reaktion rot; bei Schweinen und Kälbern bald gelb, bald rot.

Ausgesprochen positive (s. später!) Diazoreaktion findet man bei verschiedenartigsten fieberhaften Erkrankungen, während bei fieberlosen, chronischen Krankheiten die Reaktion nur ausnahmsweise deutlich positiv ist. Nach den grundlegenden Untersuchungen Ehrlichs, die durch die zahlreichen späteren Untersucher nur unwesentlich modifiziert worden sind, lassen sich die fieberhaften Erkrankungen nach ihrem Verhalten bei der Diazoreaktion in drei Gruppen einteilen:

1. Fast regelmässig fehlt sie bei Gelenkrheumatismus, Meningitis, Rubeola und Varicellen;

2. häufiger, je nach der Schwere des Falles, ist sie vorhanden bei Pneumonie, Scharlach, Diphtherie, Erysipel;

3. Regelmässig ist sie positiv bei Typhus abdominalis und exanthematicus, vorgeschrittener Phthise, Masern.

Wegen Einzelheiten sei auf die umfassende Darstellung bei Huber verwiesen.

Tierch. (Maly). **18.** 185. 1883. — Escherich, Deutsche med. Wochenschr. 1885. Nr. 45. — Brecht, Diss. Berlin 1883. — Löwinson, Diss. Berlin 1883. — Dohrendorff, Diss. Göttingen 1884. — Spiethoff, Diss. Berlin 1884. — E. Löwe, Diss. Berlin 1888. — Michaelis, Münchn. med. Wochenschr. **46.** 897. 1899. — Zeitschr. f. diätet. u. physikal. Therapie **3.** 140. 1899. — Piering, Zeitschr. f. Heilkunde **6.** 51. 1885. — Clemens, Wien. med. Blätter **22.** 127. 1899. — Deutsch. Arch. f. klin. Med. **63.** 74. 1899. — Barde, Thèse méd. Bordeaux 1899. — Jancso, Orvosi hetilap. 1901. Nr. 19. — Baccarini und Cevidalli, La clin. med. 1901. Nr. 3. — Camúrri, Gaz. degli osp. 1903. Nr. 56. — Brehmer, Diss. Leipzig 1884. — Cnopf, Diss. Würzburg 1887. — Sée, La phthise bacillaire des hommes. Paris 1884. S. 280. — Pape, Diss. Freiburg 1892. — v. Noorden, Pathologie des Stoffwechsels 1893. 216. — Friedenwald, New York med. Journ. **58.** 745. 1893. — Jez, Wien. med. Wochenschr. 1896. Nr. 52. — Umikoff, Jahrb. f. Kinderheilk. **44.** 335. 1897; **45.** 20. 1898. — Engeland, Münchn. med. Wochenschr. **55.** 1643. 1908.

[1]) Penzoldt, Berl. klin. Wochenschr. 1883. Nr. 14 u. Nr. 49. 755. — Petri, Zeitschr. f. klin. Med. **6.** 472. 1883. — Karthin, The med. News. **1893.** Nr. 21.

[2]) Huber l. c.

Digitized by Google

B. Wesen der Diazoreaktion.

Nach den Erfahrungen von Bondzynski, Dombrowski und Panek gibt die Antoxyproteinsäure in typischer Weise die Ehrlichsche Diazoreaktion. Nach Weisz ist auch das Urochromogen, das mit den Proteinsäuren des Harns in Zusammenhang steht, eine Substanz, die die Ehrlichsche Reaktion gibt. Man wird daher heute zunächst in dem Auftreten dieser Stoffe die Ursache für die Diazoreaktion des Harns suchen. Mit der Auffindung und Erforschung der Proteinsäuren bzw. des Urochromogen haben frühere Versuche von Ehrlich, Brieger, Clemens, Engeland[1]) u. a. durch Blei-, Baryt- oder Silberfällung den fraglichen Körper zu fassen, anscheinend ihre Erledigung gefunden. Dass Tyrosin sowie Histidin rote Diazokörper geben können, ist auch bekannt (s. dort).

C. Anstellung der Reaktion.

1. Ehrlichs[2]) Vorschriften. Man setzt zu etwa $^1/_3$ Reagenzglas Harn das gleiche Volum des sauren Diazoreagens. Dabei kann es zu einer „primären Farbenreaktion" kommen und zwar entweder zu einer primären Verdunkelung oder zu einer primären Vergilbung (primäres Eigelb).

Bei der primären Verdunklung ruft jeder Tropfen des sauren Reagens schwärzliche Wolken hervor, die schliesslich ins ausgesprochene Dunkelviolett spielen. Diese primäre Verdunklung ist bedingt durch Bilirubin, welches sich mit Sulfobenzol zu einem in saurer Lösung violettblauen, in alkalischer Lösung grünen, bei neutraler Reaktion roten Färbkörper paart.

Bei der primären Vergilbung ruft das Reagens tiefdunkelgelbe, dem Schaum in ausgesprochenen Fällen deutlich Orangefärbung verleihende Färbung hervor. Nach Ammoniakzusatz geht das Orange meist in Schwefelgelb über. Die Färbung hängt mit einem Gehalt an Urobilinogen zusammen (s. dort S. 1409).

Setzt man nunmehr Ammoniak hinzu, so kommt es zur Ausbildung der „sekundären Farbenreaktion". In pathologischen Harnen mit ausgesprochen positiver Reaktion entsteht eine intensive Carmin- oder Scharlachfarbe, deren Farbe sich sowohl beim Hindurchsehen, als auch namentlich an dem beim Schütteln entstehenden Schaum bemerkbar macht. Schon ein leichter Stich des beim normalen Harn nicht eigenfarbigen Schaumes ins Rote berechtigt zur Annahme des fraglichen Körpers. Nach 12stündigem Stehen beobachtet man an den obersten Schichten des entstehenden Niederschlages eine bald schmälere, bald breitere, durch intensive Dunkelfärbung ausgezeichnete Zone. Diese

[1]) P. Ehrlich, Deutsche med. Wochenschr. **10.** 419. 1884. — Brieger, Münchn. med. Wochenschr. **46.** 395. 1899. — Clemens, Verh. d. Kongr. f. inn. Med. 1904. 458. — Engeland, Münchn. med. Wochenschr. **55.** 1643. 1908.

[2]) P. Ehrlich, Deutsche med. Wochenschr. **10.** 419. 1884.

Digitized by Google

Zone ist manchmal rein grün, in anderen Fällen grünlich-schwarz oder violett. Die violette Färbung kommt zustande durch einen auch im normalen Harn vorkommenden roten Niederschlag.

Ausnahmsweise beobachtete Ehrlich[1]), dass nach Ammoniakzusatz die Flüssigkeit sich tiefgesättigt gelb färbt, so dass auch der Schüttelschaum eine exquisite Dotterfärbung zeigt. Beim Stehen bildet sich ein gelb gefärbtes Sediment. Die Reaktion hängt voraussichtlich mit Gallenfarbstoffen bzw. ihren Derivaten zusammen.

Für die Herstellung des Reagens gibt Ehrlich folgende Vorschrift. Man hält zwei Lösungen vorrätig: eine $^1/_2$%ige Lösung von Natriumnitrit und eine 20 fach verdünnte, mit Sulfanilsäure gesättigte Salzsäure. Zum Gebrauch werden 50 ccm der Sulfanilsäure mit 1 ccm Nitritlösung (oder 3 ccm mit einem Tropfen) gemischt. Die Sulfanilsäurelösung enthält etwa 5 g Sulfanilsäure im Liter. Das fertige Reagens soll farblos sein; es ist nach Ehrlich einige Tage haltbar. Man bereite trotzdem frisch.

Das käufliche Natriumnitrit enthält häufig zu geringe Mengen Nitrit (Ehrlich). Blad und Videbeck[2]) raten das Nitrit folgendermassen zu prüfen: Man löst einige Körner in Wasser. Im Falle der Reinheit entwickeln sich auf Zusatz einiger Tropfen Salzsäure rote Dämpfe von Untersalpetersäure. Oder man setzt zu der Lösung 1 Tropfen Kaliumpermanganatlösung hinzu. Dasselbe soll durch das Nitrit entfärbt werden.

Ammoniakzusatz erzeugt in der mit Natriumnitrit versetzten Sulfanilsäurelösung an sich eine intensiv gelbe Färbung, während das Reagens mit Kalilauge nur ganz blassgelb wird. Penzoldt und Petri haben daher empfohlen, statt des Ammoniak Kalilauge zu nehmen. Ehrlich gibt aber doch dem Ammoniak den Vorzug, da bei positivem Ausfall die Färbung mit Ammoniak viel reiner rot sei. Auch sei bei Verwendung von Kalilauge eine Verwechslung mit der betreffenden Reaktion des Traubenzuckers zu befürchten (S. 384, Curtmann)[3]).

Man soll nur frischen Harn ohne alkalische Harngärung benutzen (Ehrlich, Pape, Coste, Flammand, Ott, Weisz)[4]). Im sauer gemachten Harn hält sich nach Ehrlich die Reaktion beliebig lang.

Petri benutzt eine gesättigte Lösung von Sulfosalicylsäure, welche pro Liter 50 ccm offizineller Salpetersäure enthält. 100 ccm dieser Lösung mischt er mit 5 ccm 5%iger Natriumnitritlösung. Später stellte er das Reagens in 7 verschiedenen Konzentrationen her, die er dann in 7 verschiedenen Proben mit demselben

[1]) P. Ehrlich, Charité-Annalen 8. 140. 1883.

[2]) Blad und Videbeck, Hospitals-Tidende 1900. Nr. 48.

[3]) P. Ehrlich, Deutsche med. Wochenschr. 9. 549. 1883. — Penzoldt, Berl. klin. Wochenschr. 1883. Nr. 14. — Petri, Zeitschr. f. klin. Med. 6. 472. 1883. — Curtmann, Pharmaz. Rundschau 10. 278.

[4]) P. Ehrlich, Charité-Annalen 8. 140. 1883. — Pape, Diss. Freiburg. 1892. — Coste, Thèse méd. Paris 1899. — Flammand, Diss. Berlin 1899. — Ott, Wien. klin. Rundschau 18. 740. 1903. — Weisz, Wien. klin. Wochenschr 19. 1307. 1906.

Digitized by Google

Harn benutzte. Ranke konstruierte ein besonderes Reagenzglas, in dem nur die gerade erforderliche Menge des Reagens bereitet wird. Zahlreiche andere Abänderungsvorschläge siehe bei Huber [1]).

Ehrlich empfiehlt einen Überschuss von Ammoniak rasch zuzusetzen. Sahli [2]) zieht es dagegen vor, das Ammoniak allmählich zuzusetzen, so dass es sich auf den Harn schichtet.

2. Ersatzproben.

Ehrlich [3]) hat versucht, an Stelle der Sulfanilsäure mit Hilfe anderer aromatischer Körper (Metaamidobenzolsulfo-Ortho- und Para-Toluidin, Sulfonaphthylamin, Sulfoamidoazobenzoldisulfosäure, Paranitranilin, Dimethylparaphenylendiamin) analoge Lösungen herzustellen. Keine hatte aber Vorzüge vor der Sulfanilsäure.

Seng [4]) empfahl das Paranitrodiazobenzolsulfat als fertiges Diazoreagens. Das Reagens hat aber keinen Eingang gefunden.

Beck empfiehlt das Paraamidoacetophenon, einen unter Ehrlichs Leitung von Friedenwald ausgearbeiteten Körper. — Eine mit 50 ccm HCl angesäuerte Lösung von 0,5 g dieses Stoffes in 10000 ccm und eine 0,5%ige Lösung von Natriumnitrit dienen als Ausgangslösungen. Zum Gebrauch werden 200 ccm der Lösung mit 5 ccm der Lösung II gemischt. Das fertige Reagens wird mit Harn zu gleichen Teilen versetzt und dann $^1/_7$ Vol. Ammoniak am besten tropfenweise zugesetzt. Der Ausfall der Reaktion soll deutlicher sein wie mit Sulfanilsäure. Jez, Flammand, Bloch, Sievers, Ott bestätigen das. Ebenso Gieseler, Zunz, Weisz, Holmgren; Michaelis und Blumenthal [5]) konnten dagegen in dem teuren Paraamidoacetophenon keinen Vorteil gegenüber der Sulfanilsäure sehen.

VIII. Eiweissabkömmlinge.

1. Chondroitinschwefelsäure.

$C_{18}H_{26}NO_{13}\text{-}SO_3 . OH.$

A. Vorkommen. Nach K. A. H. Mörner [6]) in kleiner Menge konstanter Bestandteil des Harns. Findet sich nach K. A. H. Mörner [7])

[1]) Petri, Zeitschr. f. klin. Med. 6. 472. 1883; 7. 500. 1884. — Ranke, Fortschr. d. Med. 17. Nr. 36. 1899. — Huber, l. c.

[2]) Sahli, Lehrb. d. klin. Untersuchungsmethode 5. Aufl. 682. 1909.

[3]) P. Ehrlich, Charité-Annalen 8. 140. 1883.

[4]) Seng, Wien. med. Presse 1899. Nr. 37. 1505.

[5]) Beck, Charité-Annalen 19. 583. 1894. — Friedenwald, New-York. med. Journ. 58. 745. 1893. — Jez, Wien. med. Wochenschr. 1896. 2270. — Flammand, Diss. Berlin 1899. — Bloch, Ärztl. Rundschau 9. 481. 1901. — Sievers, För. Ar. 1901. Nr. 7. Helsingfors 1902. — Ott, Wien. klin. Rundschau 18. 740. 1903. — Gieseler, Zeitschr. f. Tuberk. u. Heilwesenstätten 3. 406. 1902. — Zunz, Bull. Acad. roy. d. méd. de Belgique 16. 797. 1903. — Weisz, Wien. klin. Wochenschr. 20. 985. 1907. — Holmgren, Münchn. med. Wochenschr. 1904. 1758. — Michaelis, Berl. klin. Wochenschr. 1900. 274. — Blumenthal, Deutsche Klinik. 4. 3. Abt. 10. 1907.

[6]) K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv 6. 378. 1895.

[7]) Mörner a. a. O. 398.

Digitized by Google

auch in der Rinderniere (nach C. Th. Mörner im echten Knorpelgewebe und der Intima der grossen Arterien, nach Oddi in der Amyloidleber). Die im normalen Harn vorkommende Menge ist grösser, als vom gleichzeitig vorhandenen Eiweiss gebunden werden kann.

Die Säure ist von C. Th. Mörner und namentlich von Schmiedeberg eingehend untersucht, ihre Beziehung zum Eiweiss und zum Harn von K. A. H. Mörner festgestellt worden. Neuere Untersuchungen stammen von Müller und Stähelin, Steudel, Orgler und Neuberg, Fränkel, Pons[1]).

Die Chondroitinschwefelsäure ist unter den nichtdialysabeln Stoffen des Harns nachweisbar (Ebbecke, Sasaki, Pons)[2]). Die tägliche Menge beträgt etwa 0,08—0,09 g entsprechend 0,005 g Schwefel = 0,5% des Gesamtschwefels (Pons).

B. Eigenschaften. 1. Amorph, in Wasser leicht löslich, in Lösung und in fester Form dem arabischen Gummi ähnlich, reagiert stark sauer, ist nur aus salzhaltiger Lösung durch Alkohol fällbar, in Eisessig unlöslich und darum aus wässeriger Lösung durch mehrere Volumen Eisessig fällbar. Mineralsäuren schlagen sie aus ihren Salzen nicht nieder, ebensowenig Essigsäure in gewöhnlicher Verdünnung. Pikrinsäure sowie Tannin fällen sie gleichfalls nicht (Mörner).

2. Ihre Lösungen drehen die Ebene des polarisierten Lichts nach links (Mörner).

3. Verbindungen. a) Die Säure gibt mit Metallsalzen neutrale Salze. Nur Zinnoxydul- und Quecksilberoxydulsalz, basisches Bleiacetat, sowie Ferri- und Uransalz nach dem Abstumpfen ihrer sauren Reaktion geben mit der Säure Niederschläge, andere Metallsalze nicht. Das (basische) Eisensalz löst sich mit brauner Farbe in Kalilauge und in Ammonsulfat, das Kupfersalz mit rein blauer Farbe (Mörner).

Von der Säure hat Schmiedeberg ein Kupfersalz mit 1 AtCu und Kalisalze mit 1 und 3 AtK dargestellt; sie sind amorph, in Wasser löslich. Von den Kupfer und Kalium zugleich enthaltenden basischen Salzen sind die stark basischen kupferreichen in Wasser unlöslich, die weniger basischen kaliumreichen löslich.

b) Mit Eiweiss. α) Die Chondroitinschwefelsäure fällt angesäuerte Leimlösung (C. Th. Mörner), sowie Eier- und Serumalbuminlösung (Schmiedeberg). Der Niederschlag aus der Leimlösung ist flockig, löst sich in überschüssiger Mineralsäure, in Kochsalz und in

[1]) C. Th. Mörner, Skandin. Archiv **1**. 210. 1889. — O. Schmiedeberg, Archiv f. exper. Pathol. **28**. 355. 1891. — Fr. Müller, Zeitschr. f. Biol. **42**. 468. 1901. — H. Steudel, Zeitschr. f. physiol. Ch. **34**. 371. 1902. — A. Orgler und C. Neuberg, Ebenda **37**. 407. 1903. — S. Fränkel, Festschrift f. Lieben (Liebigs Annalen) 1906. 541. — Ch. Pons, Archiv intern. de Physiol. **8**. 393. 1909.

[2]) N. Ebbecke, Biochem. Zeitschr. **12**. 485. 1908. — Sasaki, Hofmeisters Beiträge f. chem. Physiol. u. Pathol. **9**. 386. 1907. — Ch. Pons. Ann. soc. méd de Gand **86**. 288. 1906; Hofmeisters Beiträge **9**. 393. 1907; Archiv intern. de Physiol. **8**. 393. 1909.

Digitized by Google

Ferrocyankalium, kann also durch diese Substanzen verhindert werden. Nach K. A. H. Mörner gibt eine mit Essigsäure oder Salzsäure bis zu 0,2 % versetzte Lösung von Chondroitinschwefelsäure (aus Knorpel) mit Pepton keinen Niederschlag, mit Albumosen eine in Kochsalz leicht lösliche, milchige Trübung, mit wenig Eiweiss (Eieralbumin, angesäuertem Blutserum) eine milchige Trübung, mit mehr Eiweiss einen flockigen, in Kochsalz unvollständig löslichen Niederschlag. Nach Ch. Pons werden aus Pferdeblut dargestelltes Fibrinoglobulin, Euglobulin, Pseudoglobulin, mit Conalbumin vermischtes Serumalbumin, Globin, Wittepepton bei gleichzeitigem Zusatz von Chondroitinschwefelsäure und Essigsäure gefällt. Echtes Pepton (Kühne) wird dagegen nicht gefällt. Die Verbindung der Chondroitinschwefelsäure mit Eiweiss kann der Kürze wegen Chondroproteid oder (insbesondere die mit Albumin) Chondroalbumin genannt werden.

Fügt man zu 5 ccm Harn einige Tropfen verdünnte Essigsäure und 5—6 Tropfen einer verdünnten Natriumchondroitinsulfatlösung, so entsteht noch bei Anwesenheit von 0,005 g Eiweiss im Liter eine starke Trübung. Diese Probe ist empfindlicher, wie die Hellersche Probe, namentlich wenn der Harn vorher dialysiert wurde (Pons)[1].

Eine von K. A. H. Mörner mit Chondroitinschwefelsäure aus Harn (mit Essigsäure und Chloroform ausgefälltem dialysiertem Harn) und überschüssigem Serumalbumin dargestellte Verbindung bestand nach dem Ergebnis der Elementaranalyse aus 12 Teilen Chondroitinschwefelsäure und 88 Teilen Albumin (gefunden 51,36% C, 14,32 N, 2,18 Gesamtschwefel, 0,50 S in der Schwefelsäure und 0,04 P; berechnet 51,55% C, 14,39 N, 2,20 Gesamtschwefel und 0,68 S in der Schwefelsäure).

Die Eiweissverbindungen sind löslich in Alkalihydrat und in Säure, aber die Löslichkeit in Säure ist etwas verschieden je nach dem Gehalt der Verbindung an Eiweiss und je nach der Verdünnung der Lösung, aus welcher die Verbindung gefällt wurde.

Eine Lösung der Verbindung mit dem Maximum an Eiweiss (aus 1 Teil Chondroitinschwefelsäure und ungefähr 10 Teilen Eiweiss) in schwachem Ammoniak gab bei einem Gehalt von 2,33% organischer Substanz mit wenig Essigsäure einen Niederschlag, welcher bei Zusatz von 1% Salzsäure oder 12% Essigsäure noch nicht in Lösung ging; der Niederschlag aus einer 10fach verdünnten Lösung löste sich aber bei einem Gehalt der Flüssigkeit von 0,2% Salzsäure und 1% Essigsäure. Aus der 25fach verdünnten Lösung (mit 0,09% organischer Substanz) wurde die Fällung durch 0,2% Essigsäure durch einen Zusatz von 0,1—0,75% Kochsalz nicht verhindert, sondern eher befördert, aber 1—8% Chlornatrium wirkte hindernd. Eine geringe Menge Natriumphosphat war ohne Einfluss auf die Fällbarkeit.

Der Niederschlag der Verbindung mit nur halb so viel Eiweiss aus 0,25%iger Lösung wurde noch nicht von 1% Salzsäure gelöst. Durch Essigsäure von 0,2 bis 5% wurde die Lösung nicht gefällt, aber auf Zusatz von 0,2—1% Kochsalz und zwar die an Säure reichste am leichtesten.

Aus der geringeren Löslichkeit der eiweissarmen Verbindung erklärt sich das Verhalten des chondroitinschwefelsauren Eiweisses bei der

[1]) Ch. Pons, Ann. de la soc. méd. de Gand 86. 288. 1906.

Digitized by Google

Pepsinverdauung. Wird nämlich 0,5 %ige Lösung der eiweissreicheren Verbindung in 0,2 % Salzsäure der Einwirkung von Pepsin ausgesetzt, so tritt ein flockiger Niederschlag von chondroitinschwefelsaurem Eiweiss auf; die Lösung ist durch die Verdauung eiweissärmer geworden, und es scheidet sich dann die an Chondroitinschwefelsäure reichere, in verdünnter Salzsäure unlösliche Verbindung ab.

Schichtet man eine verdünnte Lösung des Chondroalbumins auf konzentrierte Salpetersäure (Hellersche Eiweissprobe), so entsteht an der Grenze beider Flüssigkeiten ein Eiweissring und einige Millimeter darüber ein zweiter Ring.

Durch mehrere Volumen Eisessig wird eine konzentrierte Lösung des Chondroalbumins opalescent, eine verdünnte gar nicht verändert.

β) Die Lösung der eiweissreicheren Verbindung wurde durch Eintragen von Kochsalz nicht, durch Eintragen von Magnesiumsulfat nur unvollständig gefällt, fast vollständig aber durch Zusatz von 2 Volumen neutraler gesättigter Ammonsulfatlösung. Die eiweissärmere Verbindung wurde teilweise durch Kochsalz, fast vollständig durch Magnesiumsulfat und durch 2 Volumen der gesättigten Ammonsulfatlösung gefällt.

γ) Ein normaler stark saurer Harn konnte bis zu 0,1 % mit Chondroalbumin versetzt werden, ohne dass eine Trübung eintrat. Beim Schichten dieses Harns auf konzentrierte Salpetersäure entstanden die zwei getrennt übereinander liegenden Ringe wie bei der Probe mit einer wässerigen Chondroalbuminlösung. Der mit 3 Volumen Wasser verdünnte Harn gab aber nur eine sich einige Millimeter in den Harn erstreckende diffuse Trübung. Wenig Essigsäure erzeugte in dem Harn keine Trübung, eine grössere Menge Essigsäure eine schwache; in dem verdünnten Harn rief Essigsäure nur eine schwache Trübung hervor. Nachdem aber aus dem Harn durch Dialyse der grösste Teil der Chloride entfernt worden war, bewirkte Zusatz von Essigsäure bis zu 0,2 % binnen kurzem einen reichlichen Niederschlag.

δ) Die mit Essigsäure bis zu schwacher Opalescenz und schwach saurer Reaktion versetzte Lösung der Verbindung in schwachem Ammoniak wird beim Kochen nur etwas stärker opalescent; eine mit dem gleichen Volumen gesättigter Kochsalzlösung versetzte Lösung gibt dagegen beim Kochen einen Niederschlag.

ε) Verdünnte, mit einem geringen Überschuss von Salzsäure versetzte Lösungen geben, wie reine Eiweisslösungen, mit Ferrocyankalium, Pikrinsäure nebst Zitronensäure (Esbachs Reagens), Jodquecksilberkalium, Sulfosalicylsäure, Metaphosphorsäure flockige Niederschläge, mit Trichloressigsäure eine starke Trübung. Sublimat fällt nicht, nach-

Digitized by Google

träglicher Zusatz von Kochsalz erzeugt eine schwache Trübung. — Die essigsaure Lösung wird durch Ferrocyankalium und durch Jodquecksilberkalium gefällt.

ζ) Das Chondroproteid gibt die Farbenreaktionen des Eiweisses (Violettfärbung mit Salzsäure, Xanthoprotein- und Biuretreaktion, die Reaktion von Millon und von Adamkiewicz).

Das Chondromucoid des Knorpels färbt sich nach C. Th. Mörner mit Methylviolett und Essigsäure blau, mit Anilinrot und Essigsäure rot, mit Eisenchlorid und Ferrocyankalium blau.

η). Alkalische Kupferoxydlösung wird durch Chondroalbumin nur dann reduziert, wenn ein grosser Überschuss von Alkalihydrat und Kupferoxyd zugegen ist; die Reduktion tritt aber auch dann nur allmählich ein und ist schwach. Bei längerem Erwärmen mit (5 %) Schwefelsäure auf dem Wasserbad liefert die Verbindung aber, wie die Chondroitinschwefelsäure, neben Schwefelsäure die reduzierende Substanz.

ϑ) Aus stark alkalischen Lösungen der Eiweissverbindungen (Glutin oder Glutinpepton) werden durch Alkohol oder durch Kupferacetat und Alkohol die entsprechenden Salze der Chondroitinschwefelsäure abgeschieden.

4. Die Chondroitinschwefelsäure ist in freiem Zustande unbeständig, sie beginnt in saurer Lösung nach Schmiedeberg wie eine Ätherschwefelsäure schon bei Zimmertemperatur Schwefelsäure abzuspalten. Bei tagelangem Erwärmen mit verdünnter Salzsäure auf 40—50° zerfällt die Chondroitinschwefelsäure in Chondroitin und Schwefelsäure:

$$C_{18}H_{26}NO_{13}\text{-}SO_3 . OH + H_2O = C_{18}H_{27}NO_{14} + H_2SO_4.$$

Das Chondroitin ist eine einbasische Säure, löst sich langsam aber leicht in Wasser, ist eingetrocknet dem arabischen Gummi ähnlich und hält bei Gegenwart von Alkalihydrat Kupferhydrat in Lösung, ohne dieses beim Erhitzen zu reduzieren.

Beim Kochen des Chondroitins mit verdünnter Schwefelsäure oder Salzsäure liefert es unter Braunfärbung, beim Kochen mit 2—3 %iger Salpetersäure ohne Farbenveränderung und ohne Oxydation als einzige nachweisbare Zersetzungsprodukte Chondrosin und Essigsäure:

$$C_{18}H_{27}NO_{14} + 3\,H_2O = C_{12}H_{21}NO_{11} + 3\,CH_3 . COOH.$$

Das Chondrosin ist eine Substanz vom Charakter der Amidosäuren, die nur mit Säuren beständige Verbindungen bildet. Von den Metallsalzen fällt sie nur Bleiessig mit viel Ammoniak, aber auch nur zum Teil. Die Substanz ist gummiähnlich, ihre Lösung färbt sich beim Stehen gelb oder bräunlich. Sie hält bei Gegenwart von Alkali Kupferoxyd und Quecksilberoxyd in Lösung, ohne aus der Kupferoxydlösung, im Gegensatz

Digitized by Google

zum Traubenzucker, bei gewöhnlicher Temperatur, selbst nach längerer Zeit, Kupferoxydul abzuscheiden. In der Wärme tritt die Reduktion des Kupferoxyds ebenso leicht und schön ein wie mit Traubenzucker. Von 1 Mol. Chondrosin werden 5,5 Mol. Kupferoxyd reduziert, von 1 Mol. Traubenzucker 5 Mol. Kupferoxyd; auf gleiche Gewichte Substanz reduziert das Chondrosin nur halb so stark als Traubenzucker. Das Sulfat dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts, $[\alpha]_D = 36,9^0$.

Schon bei der Digestion der Chondroitinschwefelsäure mit verdünnten Säuren in mässiger Wärme entsteht neben dem Chondroitin reduzierendes Chondrosin, sogleich, wenn man die Chondroitinschwefelsäurelösung mit der Säure kocht oder längere Zeit auf dem Wasserbade erwärmt. Die Lösung färbt sich nach C. Th. Mörner beim Erwärmen mit überschüssiger Kalilauge wie eine Zuckerlösung goldgelb oder orangegelb und reduziert ausser Kupferoxyd auch Wismutoxyd.

Durch hydrolytische Spaltung mit Barytwasser soll nach Schmiedeberg aus dem Chondrosin δ-Glucosamin und δ-Glucuronsäure entstehen, die er allerdings nicht als solche isolierte, sondern auf deren Auftreten er schloss, da durch Zersetzung Säuren entstanden, die er auf diese Stoffe zurückführte.

Die Schmiedebergschen Formulierungen lassen sich heute nicht mehr aufrecht erhalten. Fr. Müller und Stähelin sowie Steudel konnten trotz der heute wesentlich verbesserten Methodik das Glucosamin nicht fassen. Orgler und Neuberg konnten die Glucuronsäure nicht nachweisen. Sie wiesen darauf hin, dass der kolloidale Charakter und das hohe Molekulargewicht (zu 2022 für Chondroinsulfat bestimmt), sowie die Resistenz des Chondrosins gegen HNO_3 gegen die Schmiedebergschen Formulierungen spreche. Orgler und Neuberg sowie Fränkel kamen zu dem Schluss, dass der N nicht an dem eigentlichen Kohlehydrat (Glucosamin) hafte, sondern in Form einer Aminokohlehydratsäure vorhanden sei ($C_6H_{13}O_6N$ bezw. $C_6H_{11}O_6N$). — Orgler und Neuberg bekamen mit einer nach Schmiedeberg dargestellten Chondroitinschwefelsäure keine Reaktion mit Orcin- bezw. Phloroglucin. Fränkel fand dagegen an einem nach Oddi[1]) bereiteten Präparat diese Proben positiv.

Pons[2]) hat neuerdings den Versuch gemacht, nach neueren Methoden die Spaltungsprodukte der Chondroitinschwefelsäure zu charakterisieren.

C. Nachweis. Zur Abscheidung der Chondroitinschwefelsäure aus dem Harn bedient man sich nach K. A. H. Mörner der Eigen-

[1]) R. Oddi, Archiv f. exper. Pathol. 33. 376. 1894.
[2]) Ch. Pons, Archiv. intern. de Physiol. 8. 393 1909.

Digitized by Google

schaft derselben, mit Eiweiss in salzarmer, schwach saurer Lösung unlösliche Verbindungen zu bilden. Von den Salzen wird der Harn durch Dialyse befreit. Die im Eiweissharn enthaltene Menge Eiweiss kann ausreichen, alle vorhandene Chondroitinschwefelsäure zu binden, im normalen Harn ist aber der Gehalt an Eiweiss dafür zu gering; es ist daher (vor oder nach der Dialyse) noch ein Zusatz von Eiweiss erforderlich. Ein Liter Harn ist ausreichend.

Man verfährt demnach nach K. A. H. Mörner in folgender Weise: Der normale oder eiweisshaltige Harn wird so lange gegen fliessendes Wasser dialysiert, bis er nur noch geringe Mengen Chloride enthält, die Flüssigkeit, wenn nötig, filtriert und bis zu 0,1—0,2% mit Essigsäure versetzt. Um die Verbindung des Eiweisses mit der Chondroitinschwefelsäure zum Absetzen zu bringen, ist es nötig, die Flüssigkeit mit Chloroform kräftig zu schütteln. Nach 1—2tägigem Stehen lässt sich dann der Niederschlag abfiltrieren, ohne dass der Niederschlag durch das Filter geht. Bei eiweissfreien Harn wird das Filtrat mit wenig Blutserum (1,5 ccm auf das Liter) oder einer entsprechenden Menge (0,25 g) Serumalbumin vermischt und der sich bei ruhigem Stehen absetzende Niederschlag gleichfalls auf einem Filter gesammelt.

Pons[1]) gibt folgende Vorschrift: Der frische, filtrierte Harn wird in Schilfsäcke (s. S. 19) eingeführt, welche 4—5 Stunden in oft erneuertem Wasser verbleiben. Der dialysierte Harn wird, falls er trüb ist, was oft vorkommt, mit Kieselgur geschüttelt und filtriert, so lange, bis er völlig klar geworden ist. Dann wird er in drei Reagenzröhren A, B, C verteilt. A dient zur Kontrolle, B wird mit Essigsäure versetzt, zu C kommen 5—6 Tropfen einer aus reinem Leim (20 cg), 10 ccm Eisessig und 200 ccm destilliertem Wasser bestehenden Flüssigkeit. Falls Chondroitinschwefelsäure vorhanden ist, so erhält man eine beträchtlichere Trübung in C wie in B. Eventuell vorhandenes Eiweiss muss vor der Dialyse entfernt werden.

Für die qualitativen Proben sind diese Niederschläge bereits geeignet, für die Analyse bedürfen sie aber einer Reinigung. Man fällt sie zunächst noch einmal aus schwach ammoniakalischer Lösung mit Essigsäure (und Chloroform), löst wieder in schwachem Ammoniak, setzt 2—3 Volumen Alkohol zu und fällt mit Essigsäure. Endlich wird der Niederschlag mit Alkohol und mit Äther gewaschen und getrocknet. Wiewohl bei dieser Behandlung viel Farbstoff im Alkohol gelöst bleibt, ist der (direkt aus dem Harn erhaltene) Niederschlag doch stets braun gefärbt, bisweilen ziemlich stark.

a) Die Niederschläge werden dann in schwachem Ammoniak gelöst und darauf untersucht, ob sie beim Erwärmen mit Salzsäure Schwefelsäure und Chondrosin liefern. Man prüft die Lösung durch Zusatz von wenig Chlorbarium auf Schwefelsäure, bringt die klar gebliebene oder die trübe gewordene Flüssigkeit nach dem Filtrieren auf einen Salzsäuregehalt von 2,5—5% und erwärmt einige Stunden auf dem Wasserbad. Die frei gewordene Schwefelsäure hat sich in der braun gewordenen Flüssigkeit als Bariumsulfat abgeschieden. Das Chondrosin gibt sich dadurch zu erkennen, dass die Flüssigkeit nach dem Zusatz von stark alkalischer Fehlingscher Lösung bis zur alkalischen Reaktion beim Erwärmen Kupferoxydul abscheidet. Der positive Ausfall der Reduktionsprobe allein beweist die Gegenwart

[1]) Ch. Pons l. c.

Digitized by Google

der Chondroitinschwefelsäure nicht, da sie auch von dem im Harn vorhandenen und in gleicher Weise darstellbaren Mucoid erhalten wird; zur Ergänzung des Beweises ist die Auffindung der Schwefelsäure unerlässlich. Eine Verwechslung mit dem Nucleoalbumin, welches zugleich mit Chondroalbumin ausfällt, ist weniger zu befürchten. Zwar liefert Nucleoalbumin im allgemeinen bei der Behandlung mit Mineralsäure auch Kupferoxyd reduzierende Substanzen, aber gerade das Nucleoalbumin des Harns scheint hierin eine Ausnahme zu machen.

Das Bariumsulfat kann bei Verwendung von nur wenig Substanz wegen seiner nicht allzu geringen Löslichkeit in der konzentrierten Salzsäure übersehen, oder auch durch ausgefallenes Eiweiss verdeckt sein. Es empfiehlt sich daher wenigstens bei zweifelhaftem Ausfall der Reaktion, die Flüssigkeit mit Ammoniak schwach alkalisch zu machen, wodurch das Eiweiss in Lösung gebracht und gelöstes Bariumsulfat abgeschieden wird. K. A. H. Mörner hat den Nachweis der Schwefelsäure dadurch gesichert, dass er den Barytniederschlag auswusch, nach dem Verbrennen des Filters mit Soda und Salpeter schmolz und in der angesäuerten wässerigen Lösung der Schmelze die Schwefelsäure aufsuchte.

b) Die Lösung des Niederschlages in schwachem Ammoniak kann auch mit Salzsäure bis zu 0,2—0,3% versetzt und mit Pepsin bei 40° digeriert werden. Ein dabei entstehender Niederschlag beweist aber für sich nicht die Gegenwart von Chondroitinschwefelsäure, weil Eiweiss auch in Gegenwart von Nucleinsäure, von Taurocholsäure oder von Metaphosphorsäure bei der Verdauung Niederschläge gibt. Der Niederschlag ist noch besonders nach C. a) zu untersuchen.

c) Wenn die Menge der Substanz ausreicht, ist auch das Verhalten der Lösung des Niederschlages gegen die eiweissfällenden Reagentien [B. 3. b) ε) S. 1259] zu ermitteln; sie unterscheiden die Eiweissverbindung der Chondroitinschwefelsäure vom Mucoid (S 1165).

d) K. A. H. Mörner hat ausserdem mit Erfolg noch das Verhalten der Niederschläge in 0,25%iger Lösung gegen Kochsalz in verschiedener Konzentration und gegen andere Neutralsalze (B. 3. b. α) und β) zur Identifizierung der Niederschläge mit dem Chondroalbumin verwendet, und endlich auch solche Niederschläge aus Eiweissharn der Elementaranalyse unterworfen. Nach dem Ergebnis derselben bestand der eine, wie der mit Serumalbumin erhaltene (B. 3. b. α) aus 12 Teilen Chondroitinschwefelsäure und 88 Teilen Serumalbumin (gefunden 51,36% C, 14,13 N. 2,34 Gesamt-S, 0,2 P); der andere lieferte 13,49% N und 0,95% S in der Schwefelsäure, während sich für eine Verbindung von 16 Teilen Chondroitinschwefelsäure mit 84 Teilen Serumalbumin 13,76% N und 0,95% Schwefel berechnen. Über die Zusammensetzung der Niederschläge aus normalem Harn ist bei der Beschreibung der „mucinähnlichen Substanz" (Seite 1173) berichtet. Auch hat Mörner versucht, aus den aus Harn erhaltenen Eiweissniederschlägen die Chondroitinschwefelsäure nach dem Verfahren von Schmiedeberg zu isolieren und dabei Substanzen mit den Eigenschaften der freien Säure erhalten. Diese für den von Mörner angestrebten Zweck wertvollen Untersuchungen sind jetzt für den Nachweis der Chondroitinschwefelsäure im Harn entbehrlich.

D. Bestimmung. Nach Pons[1]). Die Bestimmung stützt sich auf folgende zwei Eigenschaften der Chondroitinschwefelsäure: sie dialysiert nicht und bei Einwirkung von konzentrierten Mineralsäuren spaltet sie neben Kohlehydrat Schwefelsäure ab. Da besondere Ver-

[1]) Ch. Pons, Hofmeisters Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9. 393. 1907.

Digitized by Google

suche ergeben haben, dass die anderen Ätherschwefelsäuren dialysieren, und dass einstündiges Erhitzen mit konzentrierter Salzsäure genügt, um eine maximale Schwefelsäureabspaltung aus der Chondroitinschwefelsäure hervorzurufen, gestaltet sich das Verfahren folgendermassen: 200—500 ccm Harn werden 3—5 Tage in Dialysierschläuchen gegen fliessendes Leitungswasser dialysiert, dann mit 10 ccm gesättigtem Barytwasser versetzt, um die aus dem Leitungswasser stammenden Sulfate zu entfernen. Nach 24 Stunden wird filtriert unter öfterem Zurückgiessen auf das Filter. Das gesamte Filtrat wird in einem geräumigen Kolben mit 10 ccm $BaCl_2$-Lösung und 10 ccm konz. HCl bis zur Hälfte eingekocht, nochmals 10 ccm HCl hinzugegeben und bis auf 26—30 ccm eingedampft. Das ausgeschiedene $BaSO_4$ wird dann in der üblichen Weise gewichtsanalytisch bestimmt.

2. Nucleinsäure*).

A. Vorkommen. Im Harn findet sich nach K. A. H. Mörner[1]) Nucleinsäure in sehr kleiner Menge, in geringerer als die Chondroitinschwefelsäure, wie es scheint in grösserer Menge, als von dem vorhandenen Eiweiss gebunden werden kann. Bisweilen scheint sie zu fehlen.

Nach intravenöser Injektion geht Nucleinsäure in den Harn über (Schittenhelm und Bendix[2]).

In der Niere ist Nucleoalbumin von Lönnberg, sowie von Halliburton und Brodie[3]) nachgewiesen worden.

B. Eigenschaften. 1. Die Nucleinsäuren sind Verbindungen von Phosphorsäure, Purinbasen (Guanin, Adenin, Xanthin, Hypoxanthin), Pyrimidinbasen (Thymin, Cytosin, Uracil) und einer stickstofffreien Substanz, als welche bei einigen Pentose und zwar C-Xylose und Hexose erkannt worden sind. Der Gehalt an Phosphor beträgt etwa 8—10 %.

Die Xanthinbasen sind in den Nucleinsäuren in einer Form enthalten, in welcher sie nicht unmittelbar nachgewiesen werden können.

2. Sie sind amorph, reagieren stark sauer, lösen sich in Ammoniak und den Hydraten der fixen Alkalien und werden aus diesen Lösungen nicht durch Essigsäure, aber durch geringe Mengen Salzsäure (bis 0,3 %) gefällt. Alkohol fällt sie in Gegenwart von Salzsäure vollständiger

*) S. auch den Abschnitt „Nucleinsäure, Purinstoffe, Allantoin".

1) K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv 6. 372. 1895.

2) A. Schittenhelm und E. Bendix, Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap. 2. 166. 1905.

3) F. Lönnberg, Jahresber. f. Tierch. 1890. 11; Skandin. Archiv 3. 1. 1892. — W. D. Halliburton, Journ. of Physiol. 13. 806. 1892. — Halliburton und T. G. Brodie, Ebenda 17. 135. 1894.

Digitized by Google

als Wasser. Eisessig in grossem Überschuss gibt mit Nucleinsäure einen Niederschlag (Mörner). — Die Guanylsäure von Bang wird auch durch Essigsäure aus ihrer Lösung in Alkali niedergeschlagen.

3. Sie fällen Eiweiss sowie Leim aus saurer Lösung, Albumosen weniger vollständig, Pepton (Kühne) gar nicht. Nach Kutscher[1]) gibt die neutrale Lösung eines Nucleinsäuresalzes mit wässeriger Albumoselösung einen Niederschlag von Nuclein. Mit dem Eiweiss verbinden sich die Nucleinsäuren in mehreren Verhältnissen. Die eiweissreichen Verbindungen werden als Nucleoalbumin (Nucleoproteide), die eiweissärmeren als Nucleine bezeichnet.

a) Die natürlich vorkommenden Nucleoalbumine enthalten bis ungefähr 1,5% Phosphor (die Nucleohistone sind zum Teil phosphorreicher), sind amorph, lösen sich nicht in Wasser, aber in schwachen Neutralsalzlösungen, werden durch Sättigen ihrer Lösungen mit Ammonsulfat vollständig, mit Magnesiumsulfat oder Chlornatrium unvollständig gefällt. Sie lösen sich ferner in Alkalihydrat und in Alkalicarbonat und können durch Säuren aus diesen Lösungen gefällt werden; auch lösen sie sich in Essigsäure und in verdünnten Mineralsäuren (0,25 p. m. Salzsäure), wodurch sie sich von den Nucleinen unterscheiden. Die Lösungen in Salzwasser geben beim Erwärmen Niederschläge, indem sich koaguliertes Eiweiss abspaltet. Sie werden durch alle Fällungsmittel der Eiweisskörper gefällt und geben alle Farbenreaktionen der Eiweisssubstanzen. Bei wiederholtem Auflösen und Fällen zersetzen sie sich unter Abspaltung eines phosphorreicheren Anteils. Unter der Einwirkung von Pepsinsalzsäure verlieren sie Eiweiss, und es scheidet sich das eiweissärmere, in der Verdauungssalzsäure unlösliche Nuclein ab. Beim Erhitzen mit mässig verdünnter Mineralsäure liefern einige derselben unter Braunfärbung eine Kupferoxyd in alkalischer Lösung reduzierende Substanz, und diese Zersetzung kann bereits bei mehrstündigem Erwärmen (mit 3%iger Schwefelsäure) im Wasserbad eintreten. Ein aus einem Harn spontan ausgefallenes Nucleoalbumin mit 1,79% Phosphor vertrug jedoch nach Salkowski[2]) halbstündiges Kochen mit ungefähr 8%iger Salzsäure, ohne diese Zersetzung zu erleiden. Erhitzen mit verdünnter Säure setzt zugleich die Xanthinbasen in Freiheit.

b) Die Nucleine scheiden sich bei der Verdauung der Nucleoalbumine mit Magensaft als amorphe Niederschläge ab. Sie lösen sich nicht in Wasser, sind in Alkalihydrat (auch in Ammoniak), in Alkalicarbonat und in Alkaliphosphat löslich und werden aus diesen Lösungen durch Säuren gefällt; in Barytwasser sind sie unlöslich. In Essigsäure

[1]) Fr. Kutscher, Zeitschr. f. physiol. Ch. 23. 118. 1897.
[2]) Salkowski, Virchows Archiv 131. 320. 1893.

Digitized by Google

und in verdünnten Mineralsäuren lösen sie sich, zum Unterschied von den Nucleoalbuminen, nicht, wohl aber in konzentrierten Mineralsäuren. Sie sind intensiver sauer als ihre Muttersubstanzen, die Nucleoproteide.

c) Wie die natürlichen Eiweissverbindungen der Nucleinsäure, so unterscheiden sich auch die künstlichen nach ihrem Gehalt an Eiweiss durch ihre Löslichkeit in Säuren.

Versetzt man nach Mörner eine Nucleinsäurelösung mit viel Eiweiss (Blutserum oder Eieralbumin), etwa dem Fünffachen der Nucleinsäure, so gibt Essigsäure einen Niederschlag, der sich nach dem Waschen und abermaliger Fällung aus ammoniakalischer Lösung wie Nucleoalbumin schon bei einem Zusatz von 0,4% Essigsäure vollständig und auch sehr leicht in Salzsäure löst. Ein mit mehr Nucleinsäure bereiteter Niederschlag aus Blutserum löst sich dagegen selbst in 5%iger Essigsäure nicht und nicht in Salzsäure bei einem Gehalt von 0,4%, verhält sich also wie Nuclein. Ein aus Eieralbumin mit überschüssiger Nucleinsäure bereiteter Niederschlag löste sich schon in Salzsäure von 0,2%.

d) Aus salzarmem Harn wird nach Mörner Eiweiss durch Nucleinsäure ebenso gefällt, wie aus wässeriger Lösung.

Für diesen Versuch wurde der Harn von der immer in ihm enthaltenen eiweissfällenden Substanz befreit; er wurde dialysiert, bis er nur noch wenig Chloride enthielt, bis zu 0,2% mit Essigsäure versetzt, mit Chloroform kräftig geschüttelt und das Filtrat mit überschüssigem Serumalbumin ausgefällt. Die abermals filtrierte Flüssigkeit gab mit Nucleinsäure jetzt einen Niederschlag, welcher nach dem Trocknen 1,06% Phosphor (und 1,64% Schwefel) enthielt.

4 Die Nucleinsäure gibt weder die Fällungs- noch die Farbenreaktionen des Eiweisses.

Nach Mörner gibt sie die Biuretreaktion nicht; sie wird zwar durch das Millonsche Reagens gefällt, der Niederschlag wird aber beim Kochen nicht gefärbt, sondern bleibt weiss.

5. Beim Erhitzen der Nucleinsäuren mit verdünnter Mineralsäure entsteht unter gleichzeitiger Abspaltung der Xanthinbasen, wenigstens bei einigen derselben, eine Kupferoxyd in alkalischer Lösung reduzierende Substanz (Kohlehydrat). Beim Kochen mit Alkali kann Gelbfärbung und Karamelgeruch auftreten.

C. Nachweis. Man hat zunächst die Nucleinsäure aus dem Harn abzuscheiden und diesem Zweck dient dasselbe Verfahren, durch welches die Chondroitinschwefelsäure aus dem Harn gewonnen wird (s. S. 1261). Beide Säuren werden so nebeneinander als Eiweissverbindungen erhalten, und ihnen kann sich, sicher bei ikterischem Harn, auch taurocholsaures Eiweiss beigesellen. Der Nachweis gründet sich auf den Gehalt der Nucleinsäure an Phosphorsäure und an Xanthinbasen.

Um die Phosphorsäure aufzufinden, muss der Niederschlag mit Soda und Salpeter geschmolzen und die Lösung mit molybdänsaurem Ammon in salpetersaurer Lösung geprüft werden. Dieser bloss qualitative Nachweis hat aber nur dann Wert, wenn das untersuchte Präparat beim Verbrennen für sich keine oder nur Spuren Asche hinterlässt; denn die in der Schmelze gefundene Phosphorsäure kann auch den das Präparat begleitenden anorganischen Salzen entstammen. Einem hieraus entspringenden Irrtum entgeht man durch gleichzeitige quantitative

Digitized by Google

Bestimmung der Asche und der Phosphorsäure; ist die Menge der Phosphorsäure grösser, als in Kalkphosphat von dem Gewicht der Asche enthalten sein kann, so ist man zu der Annahme berechtigt, dass wenigstens der Überschuss als Nucleinsäure vorhanden war, um so mehr, als in die Asche ja auch die Schwefelsäure der Chondroitinschwefelsäure und andere anorganische Stoffe eingehen. — Der Niederschlag, welcher bei der Pepsinverdauung des unmittelbar aus dem Harn gewonnenen Präparates entsteht, muss reicher an Phosphor sein, als das ursprüngliche Präparat. Kann man mit den beiden Niederschlägen Phosphorsäurebestimmungen ausführen und entspricht der Befund der soeben gemachten Voraussetzung, so ist eine Irrung durch den Aschegehalt des Präparates ausgeschlossen. Eine Verunreinigung der Harnniederschläge durch das gleichfalls phosphorhaltige Lecithin ist nicht ernstlich zu fürchten.

Da der Niederschlag zum bei weitem grösseren Teil aus chondroitinschwefelsaurem Eiweiss besteht, so ist in den Niederschlägen aus dem Harn nur wenig Phosphorsäure zu erwarten, keineswegs so viel, als das reine Nucleoalbumin oder Nuclein enthält. Mörner fand in dem direkt aus Harn erhaltenen Niederschlag 0,04—0,2%, in dem Verdauungsniederschlag 0,4—1% Phosphor.

Der Nachweis von Xanthinbasen in den Niederschlägen bestätigt nicht bloss den aus der Gegenwart der Phosphorsäure gezogenen Schluss in erwünschter Weise, sondern er allein genügt für den Nachweis der Nucleinsäure. Mörner verfuhr dabei in folgender Weise: Es wurde der mittels Serumalbumin aus 8,5 Liter normalem Harn und der direkt aus 1 und 3,6 Liter eiweisshaltigem Harn (nach Scarlatina) erhaltene Niederschlag mit 0,1 normaler Schwefelsäure erhitzt, die neutralisierte Lösung mit Bleiessig gefällt, das überschüssige Blei mit Schwefelwasserstoff entfernt und das Filtrat eingedampft. Dieses gab mit ammoniakalischer Silberlösung einen Niederschlag, der nach dem Waschen in einigen Tropfen Salpetersäure von 1,1 Dichte gelöst wurde. Beim Erkalten schieden sich Nadeln und Gruppen von Nadeln aus.

Das Auftreten eines Niederschlages bei der Verdauung des Niederschlages aus dem Harn beweist allein nichts für die Anwesenheit von Nucleoalbumin, denn ein solcher entsteht auch bei der Verdauung von Eiweiss in Gegenwart von Chondroitinschwefelsäure, von Taurocholsäure und Metaphosphorsäure; die Chondroitinschwefelsäure ist aber immer in dem Eiweissniederschlag aus Harn enthalten, während die Nucleinsäure fehlen kann.

3. Fleischsäure.

$$C_{10}H_{15}N_3O_5.$$

A. Vorkommen. Die nach Siegfried und nach Balke angeblich mit dem Antipepton identische Fleischsäure ist von Siegfried im Fleischsaft entdeckt, von ihm im Harn aufgefunden und von Rockwood[1]) aus Harn dargestellt worden. Wie im Fleischsaft kommt sie auch im Harn wesentlich als Phosphorfleischsäure vor.

Sie findet sich nach Balke und Ide[2]) auch in anderen Geweben (Leber, Niere); in der Milch kommt nach Balke die ihr ähnliche Oxylsäure vor.

[1]) P. Balke, Zeitschr. f. physiol. Ch. **22**. 248. 1896. — M. Siegfried, Berichte d. k. sächs. Gesellsch. d. Wissensch., Mathemat. physik. Kl. 1893. 485; Berichte d. chem. Gesellsch. **27**. 2762. 1894; Du Bois' Archiv **18**. 401. 1894. — C. W. Rockwood, Du Bois Archiv **19**. 1. 1895.

[2]) Balke und Ide, Zeitschr. f. physiol. Ch. **21**. 385. 1896.

Digitized by Google

Nachdem die Nichtexistenz eines Antipeptons in dem damaligen Sinne sich herausgestellt hat, ist der Vergleich der Fleischsäure mit dem „Antipepton" hinfällig geworden.

B. Eigenschaften. 1. Die Fleischsäure wird aus ihrem Bariumsalz [4. b)] durch Fällen des Baryts mit Schwefelsäure, Eindampfen des Filtrats im Wasserbad bis zum dünnen Sirup und Fällen mit Alkohol dargestellt. Aus den so erhaltenen hellgrauen, zusammenfliessenden Flocken wird die Säure durch sehr häufiges Lösen in Wasser und Fällen mit Alkohol als fast weisses Pulver analysenrein erhalten.

2. Die Säure ist leicht löslich und äusserst hygroskopisch; beim Eindampfen ihrer Lösung wird sie teilweise unlöslich. Durch Sättigen ihrer wässerigen Lösung mit Ammonsulfat wird sie nicht gefällt. Sie löst sich schwer in Alkohol, leichter in der Wärme als in der Kälte; aus der heiss gesättigten alkoholischen Lösung scheidet sie sich beim Erkalten in undeutlichen, mikroskopischen Krystallen aus. Sie löst sich auch in Phenol und in Eisessig, aber, namentlich in höherer Temperatur, unter Zersetzung. In Äther, Benzol, Petroläther, Chloroform ist sie völlig unlöslich. Sie reagiert auf Lackmus sauer, schmeckt aber nicht sauer, sondern angenehm nach Fleischextrakt.

3. Sie ist einbasisch. Ihre Salze sind, mit Ausnahme des Silber- und des Ferrisalzes, aus der Säure und dem Metallhydrat oder -carbonat dargestellt worden.

Die Alkalisalze reagieren alkalisch; die alkalische Reaktion tritt bei Zusatz von Alkalihydrat zu einer Lösung der Säuren schon ein, bevor die für die Bildung des normalen Salzes erforderliche Menge Basis zugesetzt ist. — Das Ammonsalz gibt beim Eindampfen seiner Lösung auf dem Wasserbad Ammoniak ab, aber schwer alles. — Das Bariumsalz, $(C_{10}H_{14}N_3O_5)$ Ba, $2 H_2O$, ist leicht löslich und reagiert alkalisch. Durch Alkohol wird es aus seiner Lösung krystallinisch gefällt. Kohlensäure scheidet aus dem Salz den Baryt nicht ab. Das Zinksalz, $(C_{10}H_{14}N_4O_5)_2Zn$, erstarrt im trocknen Vakuum krystallinisch. — Das Kupfersalz, $(C_{10}H_{14}N_4O_5)_2Cu$, ist in wässeriger Lösung, auch in verdünntester, ebenso nach dem Fällen mit Alkohol, grün. — Das Silbersalz, $C_{10}H_{12}N_3O_5Ag_2$, $2 H_2O$, wird aus der konzentrierten Lösung eines fleischsauren Salzes durch Zusatz von Silbernitrat erhalten. Schwer löslich in kaltem Wasser, leichter in heissem; aus der heiss gesättigten Lösung scheidet es sich undeutlich krystallinisch ab. Es lässt sich nur unter erheblichem Verlust umkrystallisieren. Sein Krystallwasser verliert es schon einige Grade unter 100°. Das mit Alkohol gefällte Silbersalz scheint nach Rockwood kein Krystallwasser zu enthalten. — Das Ferrisalz entsteht aus dem Bariumsalz durch Kochen der Lösung desselben mit Eisenchlorid; es bleibt zum Teil kolloid gelöst und scheidet sich erst beim Aussalzen, am besten mit Kochsalz, ab. In Alkalien ist es, im Gegensatz zum Carniferrin, unlöslich. Das Salz ist basisch; in demselben sind 51,4—54% Eisen gefunden worden. Durch Zersetzen mit Bariumhydrat liefert es wieder das Bariumsalz.

4. a) Die Phosphorfleischsäure ist eine nucleinsäureartige Verbindung der Fleischsäure mit Phosphor und wird deshalb von Siegfried als Nucleon bezeichnet. Sie löst sich in Wasser und wird aus dieser Lösung durch Alkohol gefällt.

Digitized by Google

b) Ihr Bariumsalz ist in Wasser löslich, reagiert alkalisch und wird durch Kohlensäure nicht zersetzt. Beim Kochen mit Bariumhydrat gibt es einen Niederschlag von Bariumphosphat. Calciumsalz verhält sich wie das Bariumsalz.

c) Das Ferrisalz, Carniferrin, fällt als rostbrauner amorpher Niederschlag beim Kochen des Baryum- oder Calciumsalzes mit Eisenchlorid. Umgekehrt kann das Bariumsalz aus dem Ferrisalz durch Behandeln mit einer zur völligen Zersetzung unzureichenden Menge Bariumhydrat dargestellt werden. Das Ferrisalz enthält nach Analysen von Balke[1]) in 100 Teilen 22,46 C, 3,03 H, 5,54 N, 29,19 Fe, 2,04 P; es kommen danach auf 1 At. P 6 At. N und 8 At. Fe. Es löst sich in Alkalihydrat, auch in Ammoniak, schwieriger in Natriumcarbonat; ferner in Säuren und auch in Eisenchloridlösung. Die Lösungen sind je nach der Konzentration hell- bis dunkelbraun. Die Lösungen in Alkali halten sich lange unzersetzt, wenn sie kein überschüssiges Alkalihydrat enthalten.

Verdünnte alkalische Lösungen des Carniferrins geben mit Schwefelammon erst nach langer Zeit, selbst erst nach Stunden einen Niederschlag von Schwefeleisen; die Flüssigkeit färbt sich erst grün, dann schwarz. Die Zersetzung erfolgt schneller bei Gegenwart eines grossen Überschusses von Schwefelammon sowie beim Erhitzen. — Essigsäure und Ferrocyankalium geben gleichfalls erst nach langer Zeit oder beim Kochen Berlinerblau; Verwendung einer Mineralsäure statt der Essigsäure bei der Reaktion beschleunigt die Bildung des blauen Niederschlags. — Nach Zusatz von Salzsäure zu einer Carniferrinlösung geht die braune Farbe derselben erst beim Erhitzen in die gelbe der verdünnten Eisenchloridlösung über.

d) Das Carniferrin entwickelt nach Siegfried[2]) mit Mineralsäuren schon unterhalb 100° Kohlensäure, gibt bei der Behandlung mit Mineralsäure (verdünnter Salpetersäure) oder starkem Ammoniak ein Fehlingsche Flüssigkeit reduzierendes, Furfurol und Osazon bildendes, aber von Traubenzucker verschiedenes Kohlehydrat (Glucuronsäure?); die Menge Kohlensäure, welche das Carniferrin auf 1 Mol. Fleischextrakt entwickelt, beträgt nach Krüger[3]) wahrscheinlich 1 Mol. Das Carniferrin liefert beim Behandeln mit Bariumhydrat unter Bildung eines Niederschlages von Eisenoxyd und phosphorsaurem Baryt fleischsaures Barium, welches in Lösung bleibt; daneben entsteht noch Bernsteinsäure und Milchsäure (Fleischmilchsäure aus dem Präparat aus

[1]) Balke, Zeitschr. f. physiol. Ch. 21. 363 u. 374.
[2]) Siegfried, Bericht d. chem. Gesellsch. 28. 515. 1895; Zeitschr. f. physiol. Ch. 21. 360.
[3]) Th. R. Krüger, Zeitschr. f. physiol. Ch. 22. 95. 1896.

Digitized by Google

Fleischsaft, Gärungsmilchsäure aus dem Carniferrin aus Milch). Die Zersetzung mit Bariumhydrat nimmt man am besten bei 50° vor; in der Kälte ist die Zerlegung unvollständig, beim Kochen entwickelt sich Ammoniak.

5. a) Mit Salzsäure liefert die Fleischsäure kein Chlorhydrat, sondern nach Art einer ungesättigten Verbindung ein Additionsprodukt von der Zusammensetzung $C_{10}H_{15}N_3O_5$, HCl. Die Verbindung reagiert sauer.

Aus der Lösung der Fleischsäure in kalter Salzsäure fällt Alkohol einen Körper, welcher zwar Chlor enthält, aber so fest gebunden, dass es nicht unmittelbar durch Silbernitrat nachweisbar ist. Die wässerige Lösung des mit Alkohol chlorfrei gewaschenen Niederschlages scheidet mit salpetersaurem Silber erst beim Erhitzen mit Salpetersäure Chlorsilber ab. Leichter als durch Säuren wird das Chlor durch Alkalien abgespalten; doch lässt sich das Additionsprodukt durch kohlensaures Natron neutralisieren, ohne Salzsäure abzugeben. In dieser Hinsicht verhält sich also die Fleischsäure wie nach Paal [1]) die Peptone überhaupt.

b) Behandelt man ein Metallsalz der Fleischsäure mit Schwefelwasserstoff, so entsteht eine schwefelhaltige Säure; Arnhold fand in einer solchen 10% Schwefel. — Wird Fleischsäure an der Luft mit Schwefelammon eingedampft, so vereinigt sich die dabei entstandene Thioschwefelsäure mit der Fleischsäure. Dieses Verhalten ist aber nach älteren Erfahrungen [2]) nichts der Säure Eigentümliches.

6. Die Fleischsäure gibt einen Niederschlag mit Nucleinsäure, wie die Eiweisskörper. Sie wird gefällt durch Tannin, unvollständig durch Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure; Pikrinsäure trübt die Lösung, die Trübung verschwindet beim Erwärmen und tritt beim Erkalten wieder auf. Trichloressigsäure gibt in Gegenwart von Kochsalz einen geringen harzigen Niederschlag. Nicht gefällt wird sie durch Ferrocyankalium und Essigsäure, Sublimat, Bleiessig.

7. Bei Anstellung der Biuretreaktion wird die Flüssigkeit rot. Die Millonsche Reaktion wird mit der Fleischsäure nicht erhalten.

Die aus Harn dargestellte Fleischsäure wurde bei der Biuretreaktion, nach Rockwood, nicht rot, sondern blau oder blaugrün.

8. Durch Permanganat wird die Fleischsäure zu Oxyfleischsäure $C_{30}H_{41}N_9O_{15}$ oxydiert (Balke) [3]).

9. Beim Erhitzen der Fleischsäure mit Salzsäure auf 130° entstehen Ammoniak, Lysatin, $C_6H_{13}N_3O_2$, Lysin $C_6H_{14}N_2O_2$ und noch zwei Amidosäuren, aber kein Tyrosin.

C. Darstellung und Nachweis. Rockwood hat 200 Liter Harn auf 6 Liter eingedampft und das Filtrat in der Kälte mit Barium-

[1]) C. Paal. Berichte d. chem. Gesellsch. **27**. 1835. 1894.

[2]) Huppert, Ann. d. Ch. u. Pharm. **126**. 252. 1863. — J. Specht, Ebenda 373. — Werther, Journ. f. prakt. Ch. **90**. 128. — A. Fröhde, Ann. d. Ch. u. Pharm. **130**. 127.

[3]) P. Balke, Zeitschr. f. physiol. Ch. **22**. 255.

Digitized by Google

hydrat in geringem Überschuss versetzt. Der Niederschlag wurde abfiltriert und mehrmals mit kaltem Wasser gewaschen. In diesem Filtrat entstand auf Zusatz von Eisenchlorid schon in der Kälte ein im Überschuss des Fällungsmittels löslicher Niederschlag, der ein Gemenge mehrerer sehr hygroskopischer, stickstoff- und schwefelhaltiger Säuren enthielt. Die von diesem Niederschlag abfiltrierte Flüssigkeit gab dann beim Kochen mit Eisenchlorid einen flockigen Niederschlag von phosphorfleischsaurem und von basisch fleischsaurem Eisenoxyd. Das kolloide fleischsaure Eisen könnte, wenn nötig, durch Zusatz von Kochsalz niedergeschlagen werden.

In dem Niederschlag wären dann die beiden Säuren aufzusuchen. Von den beiden Eisensalzen löst sich das phosphorfleischsaure in Alkali (Ammoniak), das andere nicht. Lässt die alkalische Lösung die Gegenwart von Eisen mittelst Ferrocyankalium und Essigsäure und namentlich mittelst Schwefelammon erst beim Erhitzen erkennen, so verhält sie sich wie eine Lösung von Carniferrin; auf den Ausfall der Reaktion mit Ferrocyanwasserstoff allein ist nichts zu geben, da Ferrocyankalium und Essigsäure für sich beim Kochen einen blauen Niederschlag liefern. Es könnte noch die Phosphorsäure nachgewiesen werden, wozu man die Lösung mit Bariumhydrat zu erwärmen hätte; die Phosphorsäure findet sich als Baryumsalz neben Eisenoxyd im Niederschlag. Rockwood hat dazu und zugleich zum Behuf einer quantitativen Bestimmung des Phosphors den (über Schwefelsäure) getrockneten Niederschlag mit Natriumhydrat und Salpeter geschmolzen; es fanden sich (mittelst der Molybdänmethode) nur 0,22 % Phosphor. Bei Verwendung reiner Substanz wäre aus einem solchen Befund auf die Gegenwart von nur wenig Phosphorfleischsäure zu schliessen.

Zum Nachweis der Fleischsäure müsste der ursprüngliche Niederschlag nach B. 4. d) mit Bariumhydrat behandelt und der Baryt wieder mit Schwefelsäure ausgefällt werden. Mit der so erhaltenen Lösung werden dann die in B. 6. und 7. angeführten Reaktionen (mit Weglassung der Nucleinsäure) angestellt. Charakteristisch sind ferner die grüne Farbe des Kupfersalzes, welches sich leicht durch Kochen der Säure mit Kupferhydrat oder Kupfercarbonat erhalten lässt, und die Art, wie die Salzsäure von der Fleischsäure gebunden ist. Diese Chlorverbindung erhält man durch Fällen einer Lösung der Fleischsäure in konzentrierter Salzsäure mit Alkohol und Auswaschen mit Alkohol; die Lösung des Niederschlages darf mit Silbernitrat erst dann einen Niederschlag geben, nachdem sie mit Natriumhydrat (chlorfreiem, aus Natrium dargestelltem) gekocht und wieder mit Salpetersäure angesäuert ist. Da auch beim Verdunsten von Schwefelammon für sich Thioschwefelsäure entsteht, so ist die Bildung dieser Säure beim Verdunsten

Digitized by Google

von Schwefelammonium mit der fraglichen Substanz (B. 5.) für den Nachweis der Fleischsäure nicht zu gebrauchen. Reicht das Material noch aus, so kann zur völligen Sicherung des Resultates noch das Silbersalz dargestellt und analysiert werden.

Die Lösung der Säure wird auf dem Wasserbade konzentriert, mit Ammoniak nahezu neutralisiert, in verdünntem Alkohol gelöst und die Lösung mit Silbernitrat ausgefällt. Der Niederschlag kann Chlorsilber enthalten, welches dann aus chlorhaltiger Säure herrühren würde; bei Gegenwart von Chlorsilber löst sich der Niederschlag nicht vollständig in Salpetersäure. Das chlorfreie Salz kann sofort zur Analyse verwandt werden, das chlorhaltige Salz wird mit Wasser ausgekocht, das Filtrat mit Alkohol gefällt und der Niederschlag, wie die von vorneherein chlorfreie Substanz mit Alkohol und mit Äther gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet. Das reine (noch kristallwasserhaltige) Salz enthält 42,60% Ag; bei 100° verliert es 7,1% Kristallwasser und enthält dann 45,86% Ag.

Ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Fleischsäure in Gewebssäften ist von Balke und Ide[1]) angegeben worden.

4. Gallensäuren.

A. Vorkommen. Gallensäuren sollen nach Hoene und Dragendorff in Spuren auch im normalen Harn nachweisbar sein, was von Mackay und von v. Udránszky in Abrede gestellt wird. Auch nach Mörner ist das Vorkommen von Gallensäure (Taurocholsäure) im normalen Harn keineswegs die Regel; er vermisste sie selbst bei der Untersuchung sehr grosser Mengen (90 Liter) Harn. Ajello und Cacace vermissten im Harn von gesunden Menschen, von Hund, Kaninchen, Ochs, Pferd, Schwein stets Gallensäuren. Sie fanden sie konstant bei Ikterus. Subkutan injizierte Gallensäuren gingen stets in den Harn über. In einigermassen erheblichen Mengen treten sie aber im ikterischen Harn auf, sowie nach Pouchet[2]) in wechselnden Mengen in dem nach dem Stadium algidum der Cholera entleerten Harn. Wie es scheint, sind die Gallensäuren des Harns die sogenannten gepaarten Gallensäuren.

Araki[3]) fand sie im Harn eines mit Arsen vergifteten Hundes.

Die Angaben von Billard[4]), wonach im Herbivorenharn (Pferd, Rind) Gallensäuren als normale Bestandteile konstant vorkommen sollen, beruhen auf der Deutung der Hayschen Probe (S. 17). Die geringe Oberflächenspannung des Herbivorenharns kann aber auch andere Ursachen haben, wie einen Gehalt an Gallensäure. Der positive Ausfall der Pettenkoferschen Probe im Harn

[1]) Balke u. Ide, Zeitschr. f. physiol. Ch. 21. 386. 1896.

[2]) S. Ajello und E. Cacace, Giorn. intern. delle scienze med. 1901. Heft 9. — A. G. Pouchet, Comptes rendus 100. 362. 1885. — K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv 6. 371. 1895.

[3]) Araki, Zeitschr. f. physiol. Ch. 17. 337.

[4]) G. Billard, Compt. rend. soc. biol. 58. 369. 1905, sowie 750. — E. Nicolas, Ebenda 566 u. 807. 1905.

Digitized by Google

kann nicht als Beweis angesehen werden (s. später). Besonders darauf gerichtete Untersuchungen ergaben denn auch, dass nach Hoppe-Seyler, nach Dragendorf-Vogel, nach Theillère sich keine Gallensäuren im Herbivorenharn nachweisen lassen. Billard will andererseits mit nach Neukomm bereiteten Extrakten aus Herbivorenharn Pettenkofersche Probe erhalten haben, aber ohne das charakteristische Spektrum.

B. Eigenschaften. 1. Die in der Galle vorkommenden Gallensäuren sind amidartige, der Hippursäure analoge Verbindungen der stickstofffreien Cholalsäuren mit Glycokoll oder mit Taurin. Aus diesen sog. gepaarten Gallensäuren lassen sich durch Zersetzung derselben mit Alkalihydraten oder den Hydraten der alkalischen Erden, sowie mit Säuren die Cholalsäuren darstellen, die, je nach der Tierart, Verschiedenheiten weniger in den Eigenschaften als in der Zusammensetzung aufweisen. Die Galle des Menschen enthält nach Schotten zwei Cholalsäuren, von welchen die eine mit der Cholalsäure der Rindergalle identisch ist (Cholalsäure), und die Fellinsäure. Die Hundegalle enthält, wie es scheint, dieselbe Cholalsäure. Die Gallensäuren besitzen einen bitteren Geschmack. Alle Gallensäuren lassen sich nach Méhu[1]) durch Sättigen ihrer Lösungen mit Ammonsulfat fällen.

a) Die Cholalsäure (Cholsäure), $C_{24}H_{40}O_5$, welche aus ihren Salzen durch Säuren amorph gefällt wird, krystallisiert nach Mylius[2]) aus heissem Wasser wasserfrei in mikroskopischen Krystallen, aus Äther (Strecker) oder beim Verdünnen ihrer Lösung in Eisessig mit Wasser bis zur milchigen Trübung in rhombischen Tafeln mit 1 Mol. H_2O, aus Alkohol mit 1 Mol. C_2H_6O in orthorhombischen Tetraedern oder Octaedern.

Auch mit anderen Alkoholen (Methyl-, Allylalkohol) und mit Aceton (je 1 Mol.) liefert sie krystallisierende Verbindungen.

Sie löst sich in 4000 Teilen kaltem und 750 Teilen kochendem Wasser, in 21 Teilen kaltem Alkohol (von 70%) und in 27 Teilen Äther, sehr schwer in Schwefelkohlenstoff, äusserst leicht in Eisessig. Sie ist optisch aktiv; für die krystallalkoholhaltige beträgt für Lösungen mit 0,5—2,0% nach Vahlen $[\alpha]_D = + 31,5$, für die alkoholfreie $+ 37,0$, nach Pregl $+ 35,1$. Sie schmilzt bei 198° (Mylius). Beim Erhitzen auf 200° oder beim Kochen mit Säuren verwandelt sie sich in ein in Wasser und Alkohol unlösliches, in Äther sehr schwer lösliches Anhydrid, das Dyslysin $C_{24}H_{36}O_3$. Sie entwickelt in der Hitze terpentinartig riechende Dämpfe. Der Cholsäure eigentümlich ist nach Mylius[3])

[1]) C. Schotten, Zeitschr. f. physiol. Ch. **10**. 175. 1886; **11**. 268. 1887. — C. Méhu, Journ. de pharm. et de chimie [4] **28**. 164. 1878.

[2]) Mylius, Berichte d. chem. Gesellsch. **19**. 369. 1886.

[3]) E. Vahlen, Zeitschr. f. physiol. Ch. **21**. 264. 1895. — Mylius, Zeitschr. f. physiol. Ch. **11**. 314. 1887. — F. Pregl, Pflügers Archiv **71**. 303. 1898.

Digitized by Google

die Fähigkeit, mit Jod in Gegenwart eines Jodids eine krystallinische, blaue Verbindung, Jodcholsäure, $(C_{24}H_{40}O_5J)_4HJ$, zu bilden. 0,02 g krystallisierte Cholsäure werden in 0,5 g Alkohol gelöst und mit 1 ccm $n/_{10}$-Jodjodkaliumlösung versetzt; das Gemisch wird allmählich mit Wasser versetzt. Die Flüssigkeit erstarrt plötzlich zu einem dunkeln Brei von Krystallnadeln, die im durchfallenden Licht blau erscheinen.

Die Cholsäure ist einbasisch. Die Alkalisalze krystallisieren, lösen sich sehr leicht in Wasser und werden durch Alkalihydrate oder -carbonate gefällt; das Barytsalz bildet feine, seidenglänzende Nadeln und löst sich in 30 Teilen kaltem Wasser; das Magnesiasalz löst sich noch leichter; das krystallisierende Bleisalz und das amorphe Silbersalz sind in Wasser unlöslich. Die meisten Salze lösen sich in Alkohol und werden aus dieser Lösung durch Äther gefällt. Sie drehen rechts, aber schwächer wie die Säure, die Alkalisalze nach Vahlen in 1%iger wässeriger Lösung ungefähr 30°, in alkoholischer stärker; ihre spezifische Drehung nimmt mit steigender Konzentration erheblich ab.

Reaktion von Hammarsten [1]). Trägt man gepulverte Cholalsäure in 25%ige Salzsäure bei Zimmertemperatur in eine mit Glasstöpsel versehene Flasche ein, schüttelt um und lässt, ohne von dem Ungelösten abzufiltrieren, stehen, so ändert sich allmählich die Farbe. Sie wird zuerst gelblich oder gelblichgrün; nach 4 bis 6—8 Stunden ist sie mehr oder weniger blauviolett und nach 24 Stunden ist sie regelmässig schön blauviolett. Filtriert man, so erhält man ein indigblaues, klares Filtrat, welches sich bald aber trübt und eine flockige, gelblichweisse Fällung absetzt. Die Filtration kann mehrmals wiederholt werden, das Filtrat trübt sich immer wieder. Die Farbe des Filtrates wird allmählich bläulichgrün, grünlich, gelbgrün, gelb. Die blauviolette Lösung zeigt einen Absorptionsstreifen um die D-Linie herum. Die erwähnte Fällung gibt die Pettenkofersche Probe, nicht aber die Myliussche Jodprobe.

b) Die Fellinsäure, $C_{23}H_{38}O_4$, wird aus ihren Salzen durch Säuren in weissen amorphen Flocken niedergeschlagen. Aus Alkohol krystallisiert sie nur schwierig, sie scheidet sich meist in durchsichtigen spröden Massen ab, aus Benzol dagegen, sowie auf Zusatz von Äther zur alkoholischen Lösung krystallisiert sie in glänzenden, nahezu rechtwinkligen Täfelchen. Die amorphe Säure schmilzt bei 142°. Beim Erhitzen entwickelt sie wie die Cholalsäure terpentinartig riechende Dämpfe.

Die Säure ist gleichfalls einbasisch. Das Bariumsalz krystallisiert mit 4 H_2O in sternförmig gruppierten Nadeln beim Versetzen der alkoholischen Lösung mit Wasser, löst sich in 870 Teilen kaltem Wasser, nicht besser in heissem, wenig oder gar nicht in absolutem Alkohol oder solchem von 96%, in verdünntem Alkohol besser als in Wasser. Das Magnesiumsalz, mit 2½ H_2O ist in Wasser so gut wie unlöslich, aus seiner alkoholischen Lösung fallen auf Zusatz von Wasser glänzende, weisse, wollige Nadeln, die unter dem Mikroskop als platte rechtwinkelige Prismen erscheinen. — Lassar-Cohn [2]) hat die Beobachtungen von Schotten bestätigt.

c) Die Glykocholsäure, $C_{23}H_{39}O_3CO.NH.CH_2.COOH$, der Rindsgalle bildet farblose Nadeln oder Prismen, löst sich schwer in kaltem Wasser (1:300), leichter in kochendem Wasser (1:120) und in Alkohol, auch in Chloroform, aber wenig in Äther. Sehr leicht

[1]) O. Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Ch. 61. 495. 1909.
[2]) Lassar-Cohn, Zeitschr. f. physiol. Ch. 19. 563. 1897.

Digitized by Google

löslich in Alkali, unlöslich in verdünnten Säuren. Sp. 138—140°. Sie fällt nach Maly[1]) Eiweisskörper in saurer Lösung nicht.

Aus der heissen wässerigen Lösung krystallisiert sie, aus der alkoholischen dagegen nicht. $[\alpha]_D = +29^0$ (in alkoholischer Lösung). Beim Erwärmen ihrer Lösung in konzentrierter Schwefelsäure wird sie unter Verlust von 1 Molekül Wasser in die Cholonsäure verwandelt, welche sich nicht in Wasser, aber in Alkohol löst. Ihre Salze mit den Alkalien oder alkalischen Erden sind in Wasser und in Alkohol löslich, die meisten Salze der schweren Metalle unlöslich; ihre löslichen Salze werden durch neutrales und basisches essigsaures Blei gefällt, sowie durch Kupfer-, Silber- und Eisenoxydsalze, aber nicht durch Quecksilberchlorid; die freie Säure ist durch Bleizucker nicht fällbar. Versetzt man die alkoholische Lösung des glycocholsauren Natrons mit Äther bis zur dauernden Trübung, so krystallisiert das Salz aus. Die spezifische Drehung des in Alkohol gelösten Natronsalzes beträgt für gelbes Licht $+25{,}7^0$.

d) Die Taurocholsäure, $C_{23}H_{39}O_3CO - NH . CH_2 . CH_2 . SO_3H$, der Rinds- (und Hunde-) Galle bildet feine, leicht zerfliessliche Nadeln, löst sich leicht in Wasser, schwer löslich in Alkohol und in Essigäther; unlöslich in Äther, Benzol, Chloroform, Aceton, Ligroin. Sie fällt nach Maly, wie Mörner[2]) bestätigt, Eiweiss in saurer Lösung sehr vollständig, aber Albumose nicht. Salze beeinträchtigen nach Mörner die Fällung.

Sie dreht rechts. Ihre Salze verhalten sich wie die der Glycocholsäure; aus ihren löslichen Salzen wird sie aber nicht gefällt durch Kupfer- und Silbersalze, durch Quecksilberchlorid, sowie durch neutrales Bleiacetat, sondern nur durch basisch essigsaures Blei, vollkommen durch essigsaures Blei und Ammoniak; das taurocholsaure Natron kann in derselben Weise krystallisiert erhalten werden, wie das glycocholsaure. In alkoholischer Lösung besitzt ihr Natronsalz für gelbes Licht eine spezifische Drehung von $+24{,}5^0$.

e) In der Menschengalle findet sich eine durch Essigsäure sowie durch Chlorcalcium und Chlorbarium fällbare Gallensäure, vielleicht Glykocholeinsäure (Hammarsten[3]).

2. Die Pettenkofersche Reaktion. Setzt man zu einer Lösung von Gallensäuren, die nur Spuren derselben zu enthalten braucht, $^2/_3$ Volumen englische Schwefelsäure so langsam hinzu, dass sich das Gemisch nicht über 60° erwärmt, darauf 3—5 Tropfen einer Lösung von 1 Teil Rohrzucker in 4—5 Teilen Wasser und schüttelt um, so färbt sich die Flüssigkeit erst rot, dann sehr schön violett (Pettenkofer). Die Reaktion tritt ebenso ein, wenn der Zucker vor der Schwefelsäure der Gallensäurelösung zugesetzt wird. Die heute meist angewandte Vorschrift lautet: Man gibt zu der zu prüfenden Lösung einige Tropfen Rohrzuckerlösung 1:10 und dann vorsichtig und langsam konzentrierte Schwefelsäure. Man sorge eventuell durch Kühlung

[1]) R. Maly, Monatshefte f. Ch. 4. 91. 1882. — K. A. H. Mörner a. a. O.
[2]) K. A. H. Mörner, a. a. O.
[3]) Hammarsten, Nova Acta Reg. Societ. Scient. Upsal., Ser. III. 16. 1893; Jahresber. f. Tierch. 1893. 331.

Digitized by Google

in Wasser dafür, dass die Temperatur 60—70° nicht übersteigt. — Man kann die Probe auch zuerst als Schichtprobe vornehmen und nachträglich unter Kühlung durchmischen. — Verdünnt man die erhaltene farbige Flüssigkeit (mit Alkohol) so stark, dass sie vom Spektrum nur das Violett absorbiert, so zeigt sie nach Schenk[1]) einen Absorptionsstreifen zwischen D und E und einen zweiten vor F.

Kurz nach Eintritt der Rotfärbung ist nach v. Udránszky auch ein bereits von Bogomoloff[2]) wahrgenommener, scharf begrenzter Absorptionsstreifen zwischen C und D, näher bei D, zu sehen, der aber in den meisten Fällen bald verschwindet; das Gesichtsfeld hellt sich dann bis etwa zur Mitte zwischen D und E auf.

Wie Mylius[3]) gezeigt hat, beruht die Pettenkofersche Reaktion auf der Verwandlung des Zuckers durch die Schwefelsäure in Furfurol.

Ville[4]) vertritt neuerdings die Auffassung, dass die bei der Hydrolyse von Rohrzucker entstehende Glucose und Fructose direkt bei der Reaktion beteiligt sind. Dagegen spricht, dass die Reaktion mit Fufurol ebensogut geht (s. unten).

Die Pettenkofersche Reaktion tritt nicht ein bei Gegenwart von Formalin (Jaffe)[5]); das beruht wahrscheinlich auf einer Einwirkung des Formaldehyds auf das Furfurol.

Von dieser Reaktion sind mehrere Modifikationen angegeben worden.

a) Nach Neukomm[6]) ist bei der Anstellung der Probe im Reagenzglas eine purpurrote, nur schwach ins Violette spielende Färbung noch wahrnehmbar mit 3 ccm einer 0,1%igen Cholsäurelösung; Glycocholsäure ist noch weniger empfindlich. Die Gallensäuren lassen sich aber durch die purpurviolette Färbung noch mit voller Schärfe in einem Tropfen einer 0,05%igen Lösung nachweisen, wenn man die Flüssigkeit mit einem Tropfen auf das fünffache Volumen verdünnter Schwefelsäure und einer Spur Zuckerlösung in einer Schale mischt und unter Umschwenken vorsichtig und gelinde erhitzt. Bei stärkerer Verdünnung der Lösung konzentriert man dieselbe vorher. Beim Erwärmen der Probe im Wasserbade tritt die Reaktion unvergleichlich sicherer ein, als beim Erwärmen über der freien Flamme.

b) Wenn man zu eingedampfter Gallensäurelösung ein Tröpfchen sehr verdünnter Rohrzuckerlösung und dann einen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure setzt, so erhält man nach Külz[7]) die Färbung sehr schön und schnell, auch ohne dass man erwärmt; tritt die Reaktion nicht bald ein, so kann man sie noch dadurch hervorrufen, dass man das Schälchen kurze Zeit auf das Wasserbad stellt.

c) Versetzt man nach Vitali[8]) ein gallensaures Salz unter Umrühren mit einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure, einigen Körnchen Zucker und dann

[1]) Pettenkofer, Ann. d. Ch. u. Pharm. **52**. 90. 1844. — S. L. Schenk, Anat.-physiol. Untersuchungen. Wien 1872. 47; Jahresber. f. Tierch. **2**. 232.

[2]) v. Udránszky, Zeitschr. f. physiol. Ch. **12**. 372. 1888. — Th. Bogomoloff, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1869. 532.

[3]) F. Mylius, Zeitschr. f. physiol. Ch **11**. 492. 1887.

[4]) J. Ville, Bull. soc. chim. de France [4] **1**. 965. 1907.

[5]) M. Jaffe, Therapie d. Gegenwart 1902; Jahresber. f. Tierch. **32**. 369. 1902.

[6]) J. Neukomm, Archiv f. Anat. u. Physiol. 1860. 365.

[7]) Külz, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1875. 515; Zeitschr. f. analyt. Ch. **15**. 106.

[8]) Diosc. Vitali, Berichte d. chem. Gesellsch. **14**. 547.

Digitized by Google

mit ein paar Tropfen Alkohol, so erwärmt sich die Flüssigkeit von selbst so stark, dass die Violettfärbung auftritt.

d) Wenn man nach Drechsel[1]) die Substanz, welche auf Gallensäure geprüft werden soll, z. B. ein winziges Körnchen cholsaures Natron, nebst einer Spur Rohrzucker in 1—3 Tropfen einer Mischung von 5 Volumen sirupdicker Phosphorsäure und 1 Volumen Wasser löst und die Lösung durch Eintauchen in kochendes Wasser erwärmt, so stellt sich in kürzester Frist eine schöne Rotfärbung ein.

e) v. Udránszky[2]) wendet direkt Furfurol an. Man setzt zu 1 ccm der wässerigen oder alkoholischen Lösung der Substanz 1 Tropfen 0,1 %ige wässerige Furfurollösung, lässt unter die Mischung 1 ccm konzentrierte Schwefelsäure fliessen und kühlt ab, um die Reaktion zu mässigen. Bei Gegenwart von nur 0,033 mg Cholsäure tritt nach längerem Stehen noch pfirsichblütrote Färbung ein, und bei 0,05 mg Cholsäure sind auch die Absorptionsstreifen deutlich zu sehen. — Eine 10 %ige Rohrzuckerlösung richtet so viel aus, wie die 0,1 %ige Furfurollösung.

f) Charakteristisch für die Gallensäuren ist die Reaktion nur dann, wenn das Rot der Färbung eine unzweifelhafte Beimischung von Blau (violett) zeigt. Ein Überschuss an Zucker macht die Flüssigkeit braun oder schwarz, ein Überschuss an Furfurol orange- bis ziegelrot. Rote und selbst violette Färbung geben überdies eine Reihe anderer Substanzen, so Eiweiss, Ölsäure (Kunde), Ricinölsäure (Neukomm), Amylalkohol, Cholesterin, Benzol, Phenol, Terpentinöl, Nelkenöl, Campher, Salicylsäure, Pyrogallussäure, Piperin, Morphin etc. (Kingzett und Hake) und viele andere Substanzen, welche v. Udránszky zusammengestellt hat. — Die roten Flüssigkeiten, welche mit Eiweiss, Ölsäure, Amylalkohol entstehen, zeigen keine Absorptionsstreifen (Bogomoloff[3]), Schenk). Von einigen anderen Substanzen hat v. Udránszky ermittelt, dass die Reaktionsprodukte Absorptionsspektren geben, doch besitzen die Streifen eine andere Lage als bei der Cholsäure. — Gleichzeitige Gegenwart oxydierender Körper verhindert diese Farbenreaktionen (Huppert).

3. Versetzt man Gallensäure in Substanz mit Bariumsuperoxyd oder Bleisuperoxyd, Zinnchlorid, oder Antimonchlorür und Schwefelsäure oder Salzsäure, so treten, wie Casali[4]) angibt, farbige Substanzen in bestimmter Reihenfolge auf, zuerst Gelb, dann Rot, Weinrot, Violett, Blauviolett.

4. Nach Pickering[5]) geben die Cholsäure und die Taurocholsäure, wie das Cholesterin, die Xanthoproteinreaktion unter Entwickelung roter Dämpfe.

5. Cholsäure lähmt wie die gepaarten Gallensäuren das Herz (Röhrig).

6. Die Gegenwart von Gallensäurensalzen setzt die Oberflächenspannung in Lösungen herab (s. Seite 18). Hierauf beruht die Probe von Haycraft (s. später).

[1]) E. Drechsel, Journ. f. prakt. Ch. [2] **24**. 44; **27**. 424.

[2]) v. Udránszky a. a. O.

[3]) Th. Bogomoloff, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1868. 529; 1869. 484 u. 532.

[4]) A. Casali, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1878. 583; Zeitschr. f. analyt. Ch. 18. 128.

[5]) J. W. Pickering, Journ. of Physiol. **14**. 372. 1893.

Digitized by Google

C. Nachweis. Der Nachweis der Gallensäuren wird mittelst der Pettenkoferschen Reaktion geführt, und zwar am besten in der Modifikation von Udránszky [B. 2. e)], weil man bei dieser nur sehr wenig Substanz nötig hat und sich die Bedingungen für das Gelingen der Reaktion leicht erfüllen lassen. Weil viele andere Substanzen eine ähnliche Färbung geben, wie die Gallensäuren, so soll man sich nicht bloss mit dem Auftreten der Färbung begnügen, sondern die farbige Lösung noch spektroskopisch untersuchen. Mackay[1]) hat sich zum Nachweis der Gallensäuren lediglich ihrer physiologischen Wirkung auf das Herz bedient. Das Verfahren könnte auch zur Kontrolle der Pettenkoferschen Probe benützt werden.

Um den störenden Einfluss zu beseitigen, welchen andere Substanzen (B. 2. f), die sich bei der Pettenkoferschen Probe auch rot oder violett färben, auf diese ausüben, schlägt Vitali vor, die fragliche Substanz nach Zusatz verdünnter Schwefelsäure einzudampfen, bis die Färbung durch violettrot in gelb übergegangen ist, und allmählich Wasser hinzuzusetzen; bei Gegenwart von Gallensäuren entsteht zunächst eine gelbgrüne Färbung und endlich ein blaugrüner Niederschlag, der, nach dem Abgiessen der Flüssigkeit, unter Zusatz von sehr wenig Zucker in Alkohol gelöst und in einer Porzellanschale bei gelinder Wärme verdunstet wird. Waren Gallensäuren vorhanden, so wird der Rückstand nach dem Verdunsten des Alkohols prächtig rotviolett und beim Stehen an der Luft durch Wasseranziehung blau. Die übrigen Substanzen färben sich dabei entweder gar nicht rotviolett oder nur in geringem Masse.

Mackay verfuhr so, dass er den Harn mit 2—3 Volumen starkem Alkohol fällte, das Filtrat eindampfte und mit dem Rückstand das Verfahren 2—3 mal wiederholte, die alkoholische Lösung mit Äther fällte, und den Niederschlag, welcher die Gallensäuren enthalten sollte, in Wasser löste. Es wurde dann das Herz eines Frosches blossgelegt, dasselbe in situ mit einem Tröpfchen einer 1%igen Atropinsulfatlösung benetzt, um die Hemmungswirkung des Vagus auszuschliessen, und dann mit der wässerigen Lösung des Harnauszuges betropft. Bei Gegenwart von Gallensäuren vermindert sich die Häufigkeit der Herzkontraktionen bis zum völligen Stillstand.

1. Der direkte Nachweis von Gallensäuren im Harn mit der Pettenkoferschen Probe ist so gut wie aussichtslos, weil der normale Harn dabei eine Färbung annimmt, welche mit der bei der Pettenkoferschen Probe verwechselt werden kann, und auch da, wo dies nicht der Fall ist, der ikterische Harn wegen seiner Farbe und des immer noch zu geringen Gehaltes an Gallensäuren zur direkten Anstellung der Probe nicht geeignet ist.

a) Setzt man zu normalem Harn vom Menschen oder Hund konzentrierte Schwefelsäure, ohne zu mischen, so entsteht an der Berührungsstelle beider Flüssigkeiten ein schön weinroter, öfter ins Violette spielender Ring; schüttelt man um, so erscheint die Flüssigkeit weinrot, nicht selten auch violettrot. Diese Färbungen sind vorzüglich durch das Indican und die Skatoxylschwefelsäure bedingt. Eine völlig unzweideutige Reaktion gibt der Harn erst bei einem Gehalt von 0,5% Gallensäure (Neukomm).

Dampft man nach Stokvis[2]) 1—2 ccm Harn mit 1—2 Tropfen sehr verdünnter Rohrzuckerlösung auf dem Wasserbade zur Trockne ein und setzt dann

[1]) J. C. H. Mackay, Archiv f. exper. Pathol. **19**. 279. 1885.
[2]) Stokvis, Archiv f. klin. Med. **33**. 115. 1883.

Digitized by Google

einige Tropfen verdünnte Schwefelsäure (1 : 5) oder Phosphorsäure zu, so erhält man fast mit jedem menschlichen Harn eine recht schöne Pettenkofersche Reaktion.

Auch der in Äther unlösliche Anteil des alkoholischen Auszuges normaler Harne gibt in wässeriger Lösung nach Mackay bei der Pettenkoferschen Probe immer eine violette Färbung, ohne dass er, nach seinem negativen Verhalten gegen das Froschherz, Gallensäure enthält.

Mit einer ebensolchen Lösung erhielt v. Udránszky eine rotbraune Furfurolreaktion ohne Absorptionsstreifen. Auch ein nach Dragendorff (2. e.) bereiteter Chloroformauszug aus normalem Harn gab in alkoholischer Lösung eine schwach rotgefärbte Lösung, gleichfalls ohne das Absorptionsspektrum; die wässerige Lösung der fraglichen Substanz wurde mit dem Millonschen Reagens rot, dürfte also aromatische Oxysäuren (s. dort) enthalten haben.

b) Nach v. Udránszky kann man bei der direkten Untersuchung des Harns so verfahren, dass man einen Tropfen desselben mit 1 ccm Wasser verdünnt. Normaler Harn mit 0,12% Cholsäure gibt dabei nach kurzer Zeit eine schön kirschrote Färbung und zeigt auch ohne weitere Verdünnung die Absorptionsstreifen; nach 24 Stunden ist die Flüssigkeit dunkelblau. Enthält der Harn weniger Cholsäure, so ist die Verdunkelung, welche der normale Harn bei der Probe erleidet, so bedeutend, dass die Gallensäurereaktion ganz verdeckt wird. Bei ikterischen Harnen ist der Nachweis durch die stärkere Eigenfarbe des Harns noch besonders erschwert. Lässt sich die Reaktion mit einem Tropfen Harn nicht erzielen, so gibt sie mit grösseren Mengen Harn meistens auch kein besseres Resultat. Mit ikterischem Harn gelingt die Reaktion in vielen Fällen nicht.

c) Nach Strassburg[1]) soll man den Harn mit etwas Rohrzuckerlösung versetzen, einen Streifen Fliesspapier in denselben eintauchen und dasselbe trocknen lassen. Betupft man den Streifen darauf mit einem Tropfen konzentrierter Schwefelsäure und lässt diese etwas abfliessen, so entsteht nach etwa 1/4 Minute eine besonders im durchfallenden Licht hervortretende schöne violette Färbung, wenn der Harn Gallensäure enthält. Man soll so noch 0,3 g Gallensäure im Liter Harn nachweisen können. Normaler Harn gibt keine violette, sondern nur eine rötliche, und wenn zu viel Zucker zugesetzt worden ist, eine bräunliche Färbung. „Geleimtes" Papier färbt sich durch die in ihm enthaltenen Harze mit Schwefelsäure allein violettrot.

d) Auch der Niederschlag, den man beim Sättigen des Harns mit Ammonsulfat erhält, ist zum Nachweis der Gallensäuren nicht geeignet. Der Niederschlag aus normalem Harn enthält farbige Substanzen, die mit Schwefelsäure eine rote Lösung geben.

e) Probe nach Haycraft. Gallensäurehaltiger Harn hat die Eigenschaft, dass auf die Oberfläche gebrachte Schwefelblumen nach einigen Minuten untersinken.

f) Nach Inouye und Ito[2]) geben die Gallensäuren mit Vanilin und Schwefelsäure eine charkteristische Reaktion. Wenn man 2 ccm einer verdünnten wässerigen Lösung cholsaurer Salze mit 0,03 g Vanilin versetzt und dann vorsichtig 2 ccm konzentrierter H_2SO_4 hinzufliessen lässt, so stellt sich an der Berührungsfläche ein schön roter Ring ein, und beim Umschütteln nimmt die Mischung zunächst eine prachtvoll rote, darauf braune oder gelbe Farbe an, die später in Violett übergeht. Diese violette Lösung zeigt bei Verdünnung mit Eisessig einen breiten Absorptionsstreifen um D sich nach C und E erstreckend.

Empfindlichkeitsgrenze für Cholalsäure 1 : 22 000, für Glycocholsäure 1 : 15 000, für Taurocholsäure 1 : 11 000.

2. Wenn man die Gallensäuren mit zweifelloser Sicherheit im Harn nachweisen will, so müssen sie aus dem Harn dargestellt werden.

[1]) G. Strassburg, Pflügers Archiv 4. 461. 1871.
[2]) K. Inouye und H. Ito, Zeitschr. f. physiol. Ch. 57. 313. 1909.

Digitized by Google

Man kann sie dazu entweder als Bleisalze oder Chininsalze oder (die Taurocholsäure) als Eiweissverbindung ausfällen, oder dem Harn mittelst Chloroform entziehen.

a) Nach Neukomm [1]) verdampft man mindestens 300—500 ccm Harn im Wasserbade bis fast zur Trockne und extrahiert den gebliebenen Rückstand mit gewöhnlichem Alkohol; die weingeistige Lösung wird von neuem verdunstet und der Rückstand mit absolutem Alkohol extrahiert. Die so gewonnene, nunmehr ziemlich salzarme Lösung wird vom Weingeist befreit, der Rückstand mit wenig Wasser aufgenommen und die Lösung mit Bleiessig ausgefällt, wobei ein Überschuss sorgfältig zu vermeiden ist; es ist nicht unzweckmässig, die Fällung fraktioniert auszuführen; der Niederschlag wird nach etwa 12stündigem Stehen gesammelt, gewaschen und zwischen Fliesspapier leicht abgetrocknet. Um andere, dem Bleiniederschlage beigemengte Substanzen möglichst zu entfernen, zieht man das gallensaure Blei mit siedendem Weingeist aus, verdampft die Lösung unter Zusatz von kohlensaurem Natron zur Trockne und behandelt den Rückstand zur Gewinnung des gallensauren Natrons mit absolutem Alkohol. Das so erhaltene Natronsalz enthält neben den Gallensäuren immer noch kleine Mengen eines harzigen Harnbestandteiles, welcher sich mit Schwefelsäure braunrötlich, zuweilen auch schwach blau oder violett und beim Erwärmen unter Zuckerzusatz rot- bis gelbbraun färbt. Selten ist diese Färbung so stark, dass dadurch die Gallensäurereaktion verdeckt wird, ist dies aber nach einer vorläufigen Prüfung der Fall, so fällt man die Gallensäuren aus der wässerigen Lösung noch einmal mit Bleiessig, sammelt den Niederschlag nach einigem Stehen und zersetzt ihn, wie oben, mit kohlensaurem Natron. — Es lässt sich nach dieser Methode noch 0,01 g Gallensäure, selbst noch die Hälfte, in 100 ccm Harn nachweisen.

b) Nach Hoppe-Seyler fällt man den Harn direkt mit Bleiessig und ein wenig Ammoniak aus, wäscht den Niederschlag mit Wasser, kocht ihn nach dem Trocknen in gelinder Wärme mehrmals mit absolutem Alkohol aus und filtriert heiss. Die alkoholische Lösung des gallensauren Bleies verdunstet man mit einigen Tropfen Sodalösung zur Trockne, kocht den Rückstand mit absolutem Alkohol aus, verdunstet die Lösung auf ein kleines Volumen und versetzt sie in einer verschliessbaren Flasche reichlich mit Äther, wodurch die gallensauren Salze zunächst als amorpher Niederschlag gefällt werden; derselbe verwandelt sich oft nach längerem Stehen in Büschel schöner Krystallnadeln. — Auch von Hilger [2]) ist dieses Verfahren mit gutem Resultat befolgt worden. — Nicolas [3]) wiederholt die Bleifällung, nachdem er zum ersten Male mit Soda zur Trockne gedampft hat, indem er mit etwas Wasser aufnimmt und die filtrierte wässerige Lösung nochmals mit basischem Bleiacetat versetzt. Der Bleiniederschlag wird dann wie oben behandelt. Er zieht dann wieder mit Wasser aus und stellt die Pettenkofersche Reaktion an. 0,01 in 1000 sind so nachweisbar.

c) Mörner [4]) entfernte die Hauptmenge des Kochsalzes durch Dialyse aus dem Harn, versetzte ihn bis zu 0,1—0,2% mit Essigsäure und schüttelte ihn kräftig mit viel Chloroform. Dabei fällt das Eiweiss des Harns in Verbindung mit den im Harn enthaltenen eiweissfällenden Substanzen aus, unter denen sich die Taurocholsäure befindet. Wenn sich der Niederschlag in einigen Tagen gut abgesetzt hatte, wurde er abfiltriert, in schwachem Ammoniak gelöst und wie zuerst mit Essigsäure und Chloroform gefällt. Der Niederschlag wurde abermals in wenig Ammoniak gelöst, die Lösung mit 2—3 Volumen Alkohol versetzt und mit Essigsäure gefällt. In der alkoholischen Lösung befindet sich, wenn sie zugegen ist, die Taurocholsäure. Das stark gefärbte Filtrat wurde neutralisiert, eingedampft,

[1]) Neukomm a. a. O. 370.

[2]) A. Hilger, Archiv d. Pharmacie **206**. 385; Zeitschr. f. analyt. Ch. **15**. 105. 1876.

[3]) E. Nicolas, Compt. rend. soc. biol. **58**. 566. 1905.

[4]) K. A. H. Mörner, Skandin. Archiv **6**. 371. 1895.

Digitized by Google

der Rückstand mit starkem Alkohol ausgezogen, die Lösung wieder verdunstet, der Rückstand in wenig Alkohol gelöst und mit Äther gefällt. Dieser Niederschlag gab bei der Verarbeitung von ikterischem Harn die Pettenkofersche Reaktion, auch nach Entfernung der festen Fettsäuren durch Barytsalz, und schmeckte bitter.

Auch Vitali[1]) benutzt bei dem einen seiner Verfahren die Fällbarkeit der Taurocholsäure durch Eiweiss zum Nachweis. Der (ikterische) Harn (60 ccm) wird mit Schwefelblei bis zur vollständigen Entfärbung geschüttelt, Filtrat und Waschwasser auf ⅓ des ursprünglichen Harnvolumens eingedampft, mit etwas Eiweiss vermischt und unter Zusatz der nötigen Menge Essigsäure koaguliert. Der Eiweissniederschlag wird gewaschen, mit Alkohol ausgezogen und die Lösung verdunstet; der Rückstand dient zur Anstellung der Pettenkoferschen Reaktion.

d) Vitali gründet ferner ein anderes Verfahren auf die Löslichkeit des gallensauren Chinins in Chloroform. Der nach c) entfärbte Harn wird mit einer konzentrierten Lösung von essigsaurem Chinin, dann mit Chloroform und so viel Alkohol versetzt, dass sich das Chloroform löst. Das Chloroform wird wieder, ohne zu schütteln, durch Wasser gefällt, verdunstet und der Rückstand zur Pettenkoferschen Probe verwendet.

e) Um die Gallensäuren aus dem Harn mittels Chloroform auszuziehen, säuert man nach Dragendorff[2]) 120—150 ccm Harn mit einigen Tropfen Salzsäure an und schüttelt ihn mit 30 g Chloroform wenigstens eine Stunde lang. Man trennt den Harn durch Abgiessen und übergiesst das durch Einschluss von farbigen Substanzen braune Chloroform mit 6—8 ccm absolutem Alkohol, wobei der Alkohol die trübenden Flocken aufnimmt, während das Chloroform wieder vollkommen klar wird. Man filtriert darauf, wobei auf dem Filter häufig eine dicke Gallerte entsteht, welche das Chloroform einschliesst und nicht mehr abfliessen lässt. Löst man jedoch diese Gallerte vom Filter durch Rühren mit einem Glasstabe ab, so filtrieren Chloroform und Alkohol schnell durch. Das vom Alkohol getrennte Chloroform lässt man auf Uhrgläsern verdunsten.

Wiewohl Dragendorff nach seinem Verfahren Gallensäuren aus Harn in unzweifelhafter Weise dargestellt hat, kann die Pettenkofersche Probe dennoch, wenn sie mit dem Chloroformauszug angestellt wird, namentlich wenn dieser nicht erst von der färbenden Substanz befreit wird, zu Irrungen Anlass geben. Nach Külz[3]) erhält man die charakteristische Färbung auch dann, wenn man dem Chloroformauszug aus nicht ikterischem Harn, namentlich dem gefärbten, bloss Schwefelsäure zusetzt, wodurch Gallensäuren nicht gefärbt werden.

f) Jolles[4]) empfiehlt folgendes Verfahren: Man versetzt 50 ccm Harn mit einer 3%igen Caseinlösung (wasserlösliches Casein), fügt unter fortwährendem Umschütteln verdünnte H_2SO_4 so lange hinzu, bis das Casein ganz ausgefällt ist (0,8—0,9 ccm 10%ige Säure sind meist erforderlich). Den Niederschlag zieht man mit 10 ccm absolutem Alkohol durch 1 Stunde aus, vom Filtrat werden 4—5 ccm mit 1 Tropfen einer 5%igen Rhamnoselösung und 4—5 Tropfen konzentrierte HCl versetzt, zum Kochen erhitzt und 1—2 Minuten darin erhalten. Nach dem Erkalten setzt man 2 ccm Äther hinzu und schüttelt um. Bei Anwesenheit von Gallensäuren ist eine charakteristische grüne Fluoreszenz wahrzunehmen.

---

[1]) Vitali, Atti della R. Acad. delle Sc. di Bologna 1892; Zeitschr. f. analyt. Ch. **31**. 725; Jahresber. f. Tierch. 1892. 539; 1894. 676.

[2]) Dragendorff, Pharm. Zeitschr. f. Russland 1868. 4. Heft; Zeitschr. f. analyt. Ch. 8. 102. 1869. — A. Vogel, Zeitschr. f. analyt. Ch. **11**. 467. — Joh. Hoene, Über die Anwesenheit der Gallensäuren im physiologischen Harn. Dorpat 1873. 25.

[3]) Külz, Allg. med. Zentralztg. 57. 1875.

[4]) A. Jolles, Zeitschr. f. physiol. Ch. **57**. 30. 1908; Chemikerztg. **33**. 1238. 1909.

Digitized by Google

Wittels und Welwart[1]) halten die Probe für unbrauchbar. — Jolles verteidigt sich aber gegen diesen Angriff.

g) Meillère[2]) versetzt den Harn mit 1%iger Schwefelsäure und schüttelt denselben in Portionen von je 10 ccm mit einem grossen Überschuss von Äther (Essigäther oder Chloroform). Das Ätherextrakt wird mit saurem Wasser gewaschen und dann mit 5 ccm Ammoniak (1/5) ausgeschüttelt und die ammoniakalische Flüssigkeit durch Zusatz von Wasser auf einen aliquoten Teil des angewandten Harns aufgefüllt. Von dieser, durch Erwärmen ätherfrei gemachten Lösung bestimmt Meillère die Oberflächenspannung mittels Duclaux's Tropfenzähler. Andererseits wird mit 1 ccm der Lösung die Pettenkofersche Reaktion angestellt. Man verdampft in einer Schale zur Trockne, giesst auf den Rückstand 5 Tropfen Schwefelsäure (mit 1/3 Wasser verdünnt), gibt ein stecknadelkopfgrosses Stück Saccharose dazu und erhitzt im Wasserbad auf 40—50°, wobei die Saccharose rosa Färbung annimmt, wenn Gallensäuren vorhanden sind. Die Flüssigkeit zeigt im Spektroskop einen Streifen zwischen D und E und einen vor F. 0,01 g sind in einem Liter Harn nachweisbar.

1) F. Wittels und N. Welwart, Ebenda **33**. 1133. 1909.
2) Meillère, Compt. rend. soc. biol. **58**. 906. 1905.

Digitized by Google

Die Farbstoffe des Harns.

Von F. N. Schulz-Jena.

An präformierten Farbstoffen kommen im frischen Harn stets vor das Urochrom und das Hämatoporphyrin, häufig das Uroerythrin, auch das Urobilin in gestandenem Harn . Das Urochrom erteilt dem Harn die gelbe Grundfarbe, das Hämatoporphyrin und das Uroerythrin sind rot, das Urobilin ist braun. Gelegentlich treten auf unter pathologischen Verhältnissen, abgesehen vom Hämoglobin und Methämoglobin, das Hämatin, das Urorubrohämatin und Urofuscohämatin, die Gallenfarbstoffe und das Melanin; ferner gewisse aus Medikamenten (Chrysophansäure, Santonin etc.) oder Nahrungsmitteln (Kirschen, Heidelbeeren etc.) stammende Farbstoffe.

Im Harn sind ferner Substanzen enthalten, welche bei der Einwirkung von Reagentien farbige Zersetzungsprodukte liefern (Chromogene). Aus der Indoxylschwefelsäure und Indoxylglycuronsäure entstehen das Indigblau und das Indigrot; andere rote Farbstoffe gehen hervor aus der Skatoxylschwefelsäure, der Skatoxylglycuronsäure und der Skatolcarbonsäure. Ein rotes Chromogenderivat eigner Art ist das Urorosein. Das leicht zersetzliche Urobilinogen ist die Muttersubstanz des Urobilins. Gewisse braune und schwarze Farbstoffe entstehen bei der Einwirkung von Säuren auf den Harn aus dem Urochrom, und andere, den Huminsubstanzen zuzuzählende, wie es scheint, aus den Kohlehydraten desselben.

Die sich durch die Einwirkung von Säure auf Zucker bildenden schwarzen Huminsubstanzen von wechselnder Zusammensetzung (das in Alkalien unlösliche Humin und die in Alkalien lösliche Huminsäure, beide in Wasser und in Alkohol unlöslich) liefern nach F. Hoppe-Seyler beim Erhitzen mit Kaliumhydrat auf 240—250° Oxalsäure, Ameisensäure, Essigsäure, zuweilen kohlenstoffreichere Fett-

Digitized by Google

säuren, Protocatechusäure (Brenzcatechin- Carbonsäure), Brenzcatechin- und Hymatomelansäure, eine gleichfalls dunkel gefärbte, der Huminsäure ähnliche, aber in Alkohol lösliche Substanz. Wird die Zersetzung des Zuckers bei Gegenwart von Harnstoff vorgenommen, so entsteht nach v. Udránszky stickstoffhaltige Huminsubstanz, welche beim Schmelzen mit Kaliumhydrat dieselben Zersetzungsprodukte, wie die stickstofffreien Huminkörper, auch einen der Hymatomelansäure entsprechenden Rest, ausserdem aber Ammoniak gibt. Dieselben Huminsubstanzen liefert nach v. Udránszky der Harn beim Kochen mit Salzsäure. Da nun jeder Harn Kohlehydrate enthält, so scheint es kaum einem Zweifel zu unterliegen, dass die Huminkörper aus diesen hervorgehen; auch die Glycuronsäure liefert nach F. Hoppe-Seyler Huminkörper. Als einen, wenn auch nicht sehr kräftigen Beweis für die Abkunft der Huminsubstanzen des Harns aus seinen Kohlehydraten führt v. Udránszky an, dass die Ausbeute an dem Produkt aus Harn in einem ziemlich konstanten Verhältnis zu seiner Reduktionsfähigkeit steht; Levulinsäure konnte jedoch v. Udránszky aus 10 Liter mit Salzsäure gekochtem Harn nicht gewinnen. Bedeutsam ist aber, wegen der Bildung von Furfurol aus Kohlehydraten durch Säuren, der Umstand, dass die schwarze Substanz, welche bei der Einwirkung von Furfurol auf Harnstoff entsteht (s. Seite 544), nach Schiff [1]) gleichfalls stickstoffhaltig ist.

Das tierische Gummi (S. 468) wird durch Bleiessig und Ammoniak gefällt, ein solcher Niederschlag aus Harn wird also bei der Behandlung mit Säuren Huminsubstanzen liefern können. Aber auch durch andere Bleisalze erzeugte Niederschläge können das tierische Gummi, als Kolloidsubstanz, mit niederreissen. Den Bleiacetatniederschlag aus Harn von Gesunden und Kranken fand Mörner [2]) reich an solchem „Chromogen". Es ist ferner zu berücksichtigen, dass auch die gepaarten Glycuronsäuren durch Bleisalze gefällt werden und dass die Glycuronsäure bei der Behandlung mit Säuren gleichfalls Huminsubstanzen bildet. Endlich ist zu erwägen, dass auch die Harnfarbstoffe durch Bleiacetat niedergeschlagen werden, und dass bei der Zerlegung dieser braune Substanzen auftreten müssen, aus dem Urochrom durch Zersetzung desselben. In dieser Hinsicht ist von Bedeutung, dass sich nach Plósz (s. Uromelanin), sowie nach Giacosa (s. bei „Giacosa's Farbstoff") das Chromogen der schwarzen Farbstoffe dem Harn (völlig) durch Amylalkohol entziehen lässt.

Erschwert wird die Untersuchung der Harnfarbstoffe noch dadurch, dass eine Veränderung der präformierten Farbstoffe während ihrer Darstellung nicht ausgeschlossen ist und ferner dadurch, dass auch die angewandten Reagentien selbst zur Quelle dem Harn fremder Farbstoffe werden können; der häufig als Extraktionsmittel verwendete Amylalkohol kann bei der Einwirkung von Säuren urobilin- und uromelaninähnliche Körper liefern.

Das Harnspektrum. Der normale Harn weist keine Absorptionsbänder auf; aber er absorbiert das Licht in verschiedenen Regionen des Spektrums mit ungleicher Stärke. Vierordt [3]) hat bei sechs normalen (pigmentreichen Nacht-)Harnen den Extinktionskoeffizienten bestimmt und folgende Werte gefunden:

---

[1]) F. Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Ch. **13**. 66. 1889. — L. von Udránszky, Zeitschr. f. physiol. Ch. **12**. 42. — Derselbe, a. a. O. **11**. 537. 1887; **12**. 33. 1888. — F. Hoppe-Seyler, a. a. O. 96. — H. Schiff, Bericht d. chem. Gesellsch. **10**. 773. 1877.

[2]) K. A. H. Mörner, Zeitschr. f. physiol. Ch. **11**. 33. 1887.

[3]) Vierordt, Die quantitative Spektralanalyse etc. Tübingen 1876. 78.

Digitized by Google

Spektralregion	Exstinktionskoeffizienten		
	absolut	relativ	Maximale Abweichung
C 15 D — C 65 D	0,0515	1	1,84
D 87 E — E 8 F	0,0819	1,59	2,14
E 8 F — E 26 F	0,0966	1,88	2,15
E 26 F — E 45 F	0,1062	2,06	1,93
E 45 F — E 63 F	0,1159	2,25	1,83
E 63 F — E 80 F	0,1259	2,44	1,71
E 80 F — F	0,1379	2,68	1,57
F — F 21 G	0,1768	3,37	1,40
F 21 G — F 44 G	0,1995	3,87	1,47
F 44 G — F 65 G	0,2325	4,51	1,49
F 65 G — F 87 G	0,2818	5,47	1,68
F 87 G — G 10 H	0,3298	6,40	1,68

Nach diesen Messungen wächst die vom Harn bewirkte Lichtabsorption in der Richtung von Rot gegen Violett. Es verhalten sich aber nicht alle Harne in dieser Hinsicht gleich, die Absorption nimmt nicht in allen Harnen gleichmässig zu, sondern es kommen sehr erhebliche Schwankungen vor, wie aus den Zahlen der Tabelle für die maximale Abweichung ersichtlich ist; diese geben an, wievielmal grösser der Extinktionskoeffizient des am stärksten absorbierenden Harns ist, als der des am schwächsten absorbierenden, in derselben Spektralregion. Dieses Anwachsen der Absorption nach dem blauen Ende und die maximalen Abweichungen erklären sich in einfacher Weise aus dem spektralen Verhalten der einzelnen im Harn vorkommenden Farbstoffe. Das Urochrom absorbiert das Licht in zunehmender Stärke vom roten zum violetten Ende des Spektrums, wie der Harn selbst. In das Rot fällt der Absorptionsstreifen α des alkalischen Hämatoporphyrins, in die Gegend D 87 E—E 8 F der Streifen γ des alkalischen und β des metallischen Hämatoporphyrins, welche beide im Harn vorkommen können, ferner α des Uroerythrins, und auf das blaue Ende des Spektrums fallen die breiten und dunklen Streifen von δ des alkalischen Hämatoporphyrins, β des Uroerythrins und der des Urobilins.

In pathologischem (sehr farbstoffreichen) Harn sind Streifen des Hämatoporphyrins, des Uroerythrins und der des Urobilins direkt wahrgenommen worden.

Ähnliche Bestimmungen hat Mörner[1]) mit eingedampftem Menschenharn, Vierordt weiter mit Harn vom Meerschweinchen, Kaninchen und Hund, ferner mit Harnen von fiebernden und fieberfreien Kranken ausgeführt. Die Harne der Kranken absorbierten das Licht 1½—9 mal so stark als stark pigmentierter normaler Harn, und die Stärke der Lichtabsorption war in den einzelnen Spektralregionen der des normalen Harns nicht proportional.

[1]) K. A. H. Mörner, Zeitschr. f. physiol. Ch. 11. 127. 1887.

Digitized by Google

Der Farbstoff des Harns lässt sich durch die Bleiacetate, sowie durch Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdänsäure fällen, aber nicht vollständig. Aus Menschen- und aus Hundeharn schlägt Bleizucker nach Vierordt[1]) den gelben, das Blau und Blaugrün besonders absorbierenden Bestandteil (Urochrom, Urobilin, Hämatoporphyrin, Uroerythrin) stärker nieder als andere. Bleiessig verhält sich ähnlich, wirkt aber in dieser Hinsicht schwächer.

Aus dem Bleiacetatniederschlag des Harns Gesunder und Kranker gewann Mörner[2]) Farbstoffe, welche Schwefel (einmal 5%) enthielten und bisweilen auch eisenhaltig waren. Barytwasser fällte nur wenig Farbstoff, von anderer Beschaffenheit als das Phymatorhusin (Melanin).

Manche Harne werden beim Stehen an der Luft dunkler, die normalen, weil sich bei ihnen Urobilin aus dem Urobilinogen bildet, die melanotischen wegen der Entstehung von Melanin aus dem Melanogen durch Oxydation und die Carbolharne aus ähnlicher Ursache.

I. Urochrom.

A. Vorkommen. Die Farbe des normalen Harns scheint im wesentlichen durch einen bestimmten Farbstoff bedingt zu sein, den man Urochrom nennt. Er macht die Hauptmenge der Harnfarbstoffe aus, soweit nicht pathologischerweise abnorme Farbstoffausscheidung statthat, und erteilt dem Harn die gelbe, orange bis braune Färbung. Die Uratsedimente enthalten nach Garrod[3]) immer etwas Urochrom allein oder neben Uroerythrin und anderen Farbstoffen.

Bereits 1798 vermuteten Fourcroy und Vauquelin, dass der Harnstoff an der Harnfarbe schuld sei, eine Ansicht, die Berzelius widerlegte. — Proust hat 1799 sich eingehender mit dem Harnfarbstoff beschäftigt. Er beschreibt zwei verschiedene Farbstoffe, von denen der eine die Uratsedimente färbt. Den anderen konnte er als „Urinharz", welches in Wasser unlöslich, in Alkohol sowie in Alkali löslich war, durch Erhitzen des eingeengten Harns mit Mineralsäuren erhalten. Daneben erhielt er durch Einwirkung der Säure ein vom Urinharz verschiedenes, schwarzes Pulver, das in Wasser und Alkohol unlöslich, in Alkali dagegen löslich war. Berzelius bestätigte im wesentlichen diese Angaben; er rechnete den Harnfarbstoff zu den Extraktivstoffen. — Lehmann befreite den Harn durch Ausfrieren von einem Teil der Salze, dampfte im Vakuum zum Sirup ein und zog dann mit Alkohol und Äther den Farbstoff aus. Nach ihm sollte der „färbende Extraktivstoff" bei der Zersetzung Harnstoff liefern. — Scharling zog den nach Lehmann dargestellten Harnsirup mit Äther aus. Er erhielt dabei eine in Wasser unlösliche Substanz. Er erwärmte diese Substanz mit Kalilauge und erhielt dann beim Ansäuern mit Schwefelsäure graue Flocken, die er durch Aufnehmen mit Äther reinigte. Diesen Körper nannte er Omichmyloxyd (ὄμιχμα = der Harn). Aus dem Omichmyloxyd erhielt er beim Zerlegen mit Mineralsäuren Benzoesäure. Sein Präparat wird also wohl wesentlich die damals noch unbekannte Hippursäure enthalten haben. — Liebig stellte ebenfalls das von Proust schon beschriebene „schwarze Harnharz" dar; er glaubte, dass dasselbe durch Oxydation durch den Luftsauerstoff aus dem eigentlichen Harnfarbstoff entstanden sei. — Marcet stellte den Harnfarbstoff dar, indem er den eingedampften Harn mit Alkohol auszog, dann durch Äther den Harnstoff ausfällte

[1]) Vierordt. a. a. O. 93.
[2]) K. A. H. Mörner. a. a. O. 133. 139.
[3]) Archibald E. Garrod, Journ. of Physiol. 17. 441. 1895; Journ. of Pathol. and Bacteriol. 3. 103. 1896.

Digitized by Google

und die alkoholisch-ätherische Farbstofflösung verdunstete. — Scherer versuchte aus dem mit Bleiessig erzeugten Niederschlag den Farbstoff zu gewinnen. — Harley extrahierte einen vorher konzentrierten Harn mit Alkohol, fällte den Alkoholauszug mit Kalkwasser und zog den entstandenen Niederschlag mit salzsäurehaltigem Alkohol aus; nach dem Verdunsten des Alkohols erhielt er den Harnfarbstoff als amorphen, rotbraunen, harzigen Rückstand, der in Wasser nicht, dagegen in Alkohol, Äther, sowie Alkali leicht löslich war und beim Verbrennen eine zum grossen Teil aus Eisenoxyd bestehende Asche hinterliess. Er nannte den Farbstoff Urohämatin und leitete denselben vom Blutfarbstoff ab. Tichborne[1]) gründete eine Methode der Darstellung auf die Beobachtung de Lunas, dass sich Harnfarbstofflösungen durch ammoniakalische Lösung von Kupfernitrat entfärben lassen. Tichborne versetzte eingeengten Harn (1,163 spezifisches Gewicht) mit dieser Kupferlösung. Beim Neutralisieren mit verdünnter Schwefelsäure fiel ein Kupferniederschlag aus, welcher den ganzen Farbstoff, sowie etwas Harnstoff und Eiweiss enthielt. Der Kupferniederschlag wurde mit Schwefelsäure gelöst, der Harnfarbstoff mit Alkoholäther extrahiert und durch nochmaliges Umfällen mit Kupferlösung gereinigt. Der Harnfarbstoff Tichbornes war in Wasser und Weingeist löslich, in absolutem Alkohol und in Äther dagegen unlöslich. Von basischem Bleiacetat wurde er vollständig gefällt. Tichborne betrachtete seinen Farbstoff als ein Zersetzungsprodukt der Hippursäure.

Die von diesen älteren Untersuchern gewonnenen und beschriebenen Farbstoffe sind sicherlich zum Teil durch Zersetzung des ursprünglichen Harnfarbstoffes entstanden und alle mehr oder weniger unrein gewesen. Auch die neueren Untersuchungen von Schunk, Thudichum, Garrod, Dombrowski, Hohlweg, Salomonsen und Mancini, Weisz[2]) haben die Frage nach der Natur des Harnfarbstoffes noch nicht zur vollen Aufklärung gebracht. Aber immerhin ist es neuerdings gelungen, einigermassen diesen Farbstoff zu charakterisieren und seine Beziehungen zu anderen Farbstoffen klarzustellen. Es ergeben sich aber auch jetzt noch solche Differenzen in den Angaben der verschiedenen Untersucher je nach der angewandten Methode, dass es notwendig ist, die nach den verschiedenen Methoden dargestellten Farbstoffe getrennt zu beschreiben, obschon es wahrscheinlich ist, dass ihnen allen ein und der gleiche Farbstoff zugrunde liegt.

Die schwarzen Farbstoffe, welche man in verschiedener Weise aus dem Harn dargestellt hat, sind zum Teil wenigstens Zersetzungsprodukte des Urochroms.

Dombrowski bestimmte den Urochromgehalt nach seiner Kupfermethode zu 0,3885 g in 24 Stunden im normalen Harn, zu 0,7769 g bei Pneumonia crouposa, zu 0,8682 g, 1,0358 g, 0,7601 g, 1,0572 g in vier Fällen von Typhus in der dritten Woche. Es wurden

[1]) Fourcroy und Vauquelin, Ann. de Chemie 31. 68. 1798. — L. Proust, Ann. de Chemie 36. 1799; Ann. de Chemie et Physique 14. 257. 1826. — B. Berzelius, Lehrb. d. Ch. 4. Aufl. 9. 553. 1840. — J. C. Lehmann, Journ. f. prakt. Ch. 25. 1. — Scharling, Ann. d. Chemie u. Physik 42. 265. 1842. — J. Liebig, Ebenda 50. 168 u. 172. 1844. — Marcet, Biblioth. Univ. de Genève 1852. 144. — Scherer, Ann. d. Chemie u. Phys. 57. 180. 1857. — Harley, Journ. f. prakt. Ch. 14. 164. — Tichborne, Chemic. News 5. 163. 1862.

[2]) Zitate s. später.

Digitized by Google

als Urochrom ausgeschieden 0,27% des Gesamtstickstoffs beim normalen, 0,35 % im Pneumonieharn und 0,48—1,25 % im Typhusharn. Marischler bestimmte das Urochrom nach einer Modifikation der Methode von Browinski und Dombrowski. Bei Blinddarmentzündung, fieberloser Pleuritis exsud., Morbus Basedowii (je ein Fall) schwankte die Menge zwischen 0,37—0,86, also etwa der Norm entsprechend. 0,8—1,4 g fanden sich bei Diabetes insipidus (ein Fall). Schilddrüsenextrakt steigerte die Ausscheidung von 0,168 auf 0,35—0,81 g bezw. von 0,21—0,31 g auf 0,46—2,4 g pro die. Browinski und Dombrowski bestimmten den Urochromgehalt bei gesunden Menschen, welche gemischte Kost enthielten, zu 0,37—0,69 g, im Mittel zu 0,5 g pro 24 Stunden. Beim Übergang zu reiner Milchkost sank der Urochromgehalt (Milch und Kartoffeln) bis zu $^2/_3$ oder sogar $^1/_2$ (0,2237 bis 0,432 g) des ursprünglichen Gehaltes herab, trotzdem die Grösse des Eiweissumsatzes unverändert blieb, um nach reiner Fleischkost (Fleisch und Kartoffeln) das beobachtete Maximum (1,19 g) der Ausscheidung zu erreichen. Stark gesteigert war die Menge bei Typhus (0,909 g), vergrössert bei Lebercirrhose (0,703—0,796 g). Die Steigerung war nicht nur absolut, sondern auch im Verhältnis zum Gesamtstickstoff. — Hohlweg schätzt die Urochrommenge auf 3,1 g in 25 Liter, das würde bei einer täglichen Harnmenge von 2 Liter etwa 0,12 g pro die ausmachen. Ältere Versuche von Klemperer[1]), die Urochrommenge auf kolorimetrischem Wege zu bestimmen, sind zu wenig zuverlässig, um zum Vergleich herangezogen zu werden.

B. Ursprung des Urochrom. Während Garrod die Ansicht vertrat, dass das Urochrom in naher chemischer Beziehung zum Urobilin steht und damit zu den Gallenfarbstoffen bezw. dem Hämatin, vertritt Dombrowski die Ansicht, dass eine derartige Beziehung nicht besteht, dass das Urochrom dagegen ein Produkt des Eiweissabbaues sei, ebenso wie die Proteinsäuren.

Eine Hauptstütze Garrods für seine Ansicht war die Überführbarkeit des Urochrom in Urobilin durch Einwirkung von Acetaldehyd. Nach den Erfahrungen von Dombrowski und auch von Hohlweg scheint die Angabe Garrods auf einem Irrtum zu beruhen (s. bei Eigenschaften der verschiedenen Urochrome).

Dombrowski stützt seine Ansicht einmal darauf, dass bei der Zersetzung des Urochrom nicht das für das Hämatin und seine Ver-

[1]) St. Dombrowski, Zeitschr. f. physiol. Ch. **54**. 390. 1908. — Jul. Marischler, Tygodnik lekarski 4. 457. 1909; Jahresber. f. Tierch. **39**. 321. 1909. — J. Browinski und St. Dombrowski, Journ. de physiol. et pathol. générale 1908. 819; Bull. de l'Acad. des scienc. de Cracowie 1908; Rozprawy Akad. umiejçtnosci [3] 8. 155. 1908. — F. Klemperer, Berl. klin. Wochenschr. 1903. 313. — Münchn. med. Wochenschr. 1903. 269.

Digitized by Google

wandte charakteristische Hämopyrrol, sondern einfaches Pyrrol entsteht. Ferner legt er grossen Wert auf den Schwefelgehalt seines Urochroms. Weitere Erfahrungen müssen lehren, ob dieser Schwefel wirklich integrierender Bestandteil des Urochrommoleküls ist, wie Dombrowski annimmt. Liebermann[1]) hat gegen die chemische Reinheit des Urochroms (Dombrowski) Bedenken geäussert, die aber nicht durch eigene Beobachtungen genügend gestützt werden. Dagegen ist das Urochrom Hohlwegs schwefelfrei gewesen. Hohlweg glaubt, dass das Urochrom Dombrowskis mit schwefelreichen Stoffen verunreinigt gewesen sei. Es müsste sich dann um sehr stark verunreinigte Präparate oder um eine ausserordentlich schwefelreiche Verunreinigung handeln, da die Präparate Dombrowskis bis zu 5% Schwefel enthielten. Dombrowski ist dagegen der Meinung, dass bei der Darstellungsweise Hohlwegs durch die Einwirkung des Eisessigs der Schwefel abgespalten sei. — Eine weitere Stütze würde die Annahme Dombrowskis finden, wenn es sich bestätigte, dass die Menge des Urochrom in direktem Zusammenhang mit der Grösse des Eiweisszerfalls steht, wie das seine und Marischlers Bestimmungen vermuten lassen.

I. Das Urochrom von Dombrowski.

A. Eigenschaften. 1. Das Urochrom hat die Eigenschaften einer Säure. Es färbt blaues Lackmuspapier stark rot. Es ist in Wasser leicht löslich, bildet in konzentrierter Lösung einen rotbraunen Sirup, der beim Eintragen in 97%igen Alkohol einen reichlichen flockigen Niederschlag fallen lässt. Die alkoholische Lösung wird durch Äther gefällt, wobei ein reichlicher dunkelgelber Niederschlag entsteht.

2. Es gibt ähnlich wie die Proteinsäuren ein in Wasser leicht, in Alkohol dagegen schwer lösliches Barium- und Natriumsalz. Diese Salze sind amorph wie auch die Kupferverbindung. Analysiert wurde Kupferurochrom C 36,76 %, H 3,56 %, N 9,72 %, S 2,57 %, Cu 21,38 %; Silberurochrom C 22,61 %, H 2,43 %, N 4,1 %, S 1,2 %, Ag 51,97 %; Ca-Urochrom C 36,10 %, H 4,41 %, N 6,82 %, S 2,25 %, Ca 13,99 %. Das freie Urochrom hatte die Zusammensetzung: Präparat A = C 45,32 %, H 5,26 %, N 9,49 %, S 5,59 %, O 34,34 %. Präparat B = C 43,42 %, H 5,33 %, N 10,78 %, S 5,89 %, O 34,58 %.

Auffallend sind die starken Schwankungen im Schwefelgehalt der verschiedenen Präparate. Silberurochrom anderer Darstellung: C 24,60, H 2,85, N 6,63, S 2,47, Ag 42,86.

3. Ausser durch Kupferacetat wird das Urochrom aus den Lösungen durch basisches Bleiacetat und Quecksilberacetat gefällt.

[1]) Hans Liebermann, Zeitschr. f. physiol. Ch. 52. 129. 1907.

Digitized by Google

Eine frische Eisenchloridlösung fällt aus den Urochromlösungen einen bräunlichen flockigen Niederschlag. Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdänsäure geben in Urochromlösungen einen reichlichen Niederschlag, welcher sich jedoch beim Waschen mit stark verdünnter Säure leicht wieder auflöst. Jodjodkaliumlösung sowie Jodquecksilberkaliumjodid geben mit Urochromlösungen keinen Niederschlag. Quecksilber fällt aus wässerigen Urochromlösungen fast gar keinen Niederschlag aus. In einer Alkohollösung gibt dagegen eine alkoholische Quecksilberchloridlösung einen reichlichen flockigen Niederschlag. Aus wässerigen und alkoholischen Lösungen fällen Gold- und Platinchlorid das Urochrom nicht aus.

4. Frisch gewonnenes Urochrom löst sich in 90%igem Alkohol leichter auf wie getrocknetes. Die alkoholische Lösung hat eine schön goldgelbe Farbe. In absolutem Alkohol löst sich das Urochrom sehr schwer. Die alkoholische Lösung ist haltbar. Äther fällt aus der Lösung einen leichten flockigen Niederschlag (s. oben). In Äther, Benzol, Essigäther, Chloroform ist das Urochrom nicht löslich.

5. Beim Verbrennen des Urochroms auf dem Platinblech entsteht in reichlicher Menge ein Kohlenschwamm.

6. Auf Zusatz von Mineralsäuren ändern die goldgelben Urochromlösungen bei Zimmertemperatur ihre Farbe nicht. Beim Erwärmen nehmen sie eine rotbraune Farbe an. Durch Ammoniak wird die Farbe wässeriger Urochromlösungen nicht geändert. Kalilauge und Natronlauge ändern ebenfalls die Farbe nicht, es wird jedoch schon bei Zimmertemperatur bleischwärzender Schwefel abgespalten.

7. Wässerige Urochromlösungen geben mit Natronlauge und Nitroprussidnatrium eine purpurrote Farbe, welche rasch verblasst, ins braunrot übergeht und dann ganz verschwindet. Eine ähnliche Reaktion lässt sich unter Umständen am Cystein beobachten (Mörner)[1].

8. Das Urochrom ist ungewöhnlich leicht zersetzlich.

9. Wenn zu einer schwachen, mit einer verdünnten Ferricyankaliumlösung vermischten Eisenchloridlösung (Selmis Reagens) freies Urochrom hinzugefügt wird, schlägt die blassgelbe Farbe der Mischung sogleich in eine intensiv himmelblaue um, wobei sich ein Niederschlag von Berlinerblau bildet.

10. Jodsäure wird durch Urochrom zu Jodwasserstoff reduziert unter Ausscheidung von Jod, das man leicht mit Schwefelkohlenstoff ausziehen kann. Keine der Proteinsäuren gibt diese Reaktion.

[1]) K. A. H. Mörner, Zeitschr. f. physiol. Ch. 28. 611.

Digitized by Google

11. Goldchlorid wird von Urochrom nicht reduziert beim Erwärmen; ammoniakalische Silberlösung gibt keinen Silberspiegel.

12. Weder die alkalischen noch die sauren goldgelben Urochromlösungen geben einen Absorptionsstreifen, dagegen absorbieren die Lösungen stark die violetten Strahlen und zwar liegt der Beginn der Absorption in konzentrierten Lösungen bei $\lambda = 470—468\ \mu\mu$, bei verdünnten Lösungen bei $\lambda = 444—442\ \mu\mu$. Mit Zinkchlorid und Ammoniak fluoreszieren die Urochromlösungen nicht.

13. Zusatz von Aldehyd zu der Lösung des Urochrom in alkoholischer Lösung hatte kein Auftreten eines Streifen zur Folge. Ob mit Ammoniak und Chlorzink grüne Fluorescenz eintritt, darüber äussert sich Garrod nicht.

Dombrowski hat mit Rücksicht auf die Ansicht Garrods, dass nur durch Wärme und Licht abgestandener Aldehyd die Überführung des Urochrom in Urobilin verursache, sich ausdrücklich bemüht, sich „aktiven Aldehyd" zu beschaffen. Er überzeugte sich von der Wirksamkeit des von ihm benutzten Präparates, indem er feststellte, dass Urobilinlösungen, die nach dem Abdampfen auf dem Wasserbad ihre optischen Eigenschaften eingebüsst hatten (Hopkins und Garrod), ebenso wie Urobilinlösungen, die nach Riva und Chiodera[1]) durch Oxydation mit Kaliumpermanganat ihren charakteristischen Streifen verloren hatten, unter dem Einfluss dieses Aldehydpräparates ihren Streifen wieder erhielten.

Dombrowski ist demnach der Meinung, dass Garrod in seinen Lösungen ein Gemenge von Urochrom mit anderen Farbstoffen vielleicht mit dem erwähnten Chromogen des Urobilin vor sich gehabt habe.

14. Beim Vermischen des Silberurochrom mit Methyljodid entsteht bei Zimmertemperatur eine esterartige Verbindung, die in Äther, Benzol unlöslich, in Chloroform schwerlöslich, in Methylalkohol leicht löslich war. Die methylalkoholische Lösung hinterlässt beim Verdunsten im Vakuum eine dunkelgelbe harzige Masse, die sich zu einem Pulver zerreiben liess, frei von Jod, aber S-haltig war. In methylalkoholischer Lösung gibt sie mit Kupferacetat eine in Wasser unlösliche Kupferverbindung.

15. Bei trockener Destillation mit Zinkstaub, sowie auch bei Reduktion mit Jodwasserstoff und Phosphoniumjodid, sowie auch bei direktem Erhitzen des Kalksalzes und des Kupfersalzes entsteht ein pyrrolartiger Körper. Die genauere Untersuchung ergab, dass es sich

[1]) F. G. Hopkins und A. E. Garrod, Journ. of Physiol. **22**. 264. 1898. — A. Riva, Gaz. med. di Tornio **47**. Nr. 12. 1896. — Chiodera, Ebenda Nr. 39; Zentralbl. d. med. Wissensch. 1898. 291.

Digitized by Google

nicht um Hämopyrrol, sondern allem Anschein nach um einfaches Pyrrol handelte. Dombrowski glaubt daher die Möglichkeit einer Umwandlung von Urochrom in Urobilin und umgekehrt ausschliessen zu können.

16. 60,7 % des Gesamtschwefels waren mit Lauge als Sulfid abspaltbar, 10 % wurden in oxydierter, als Schwefelsäure abspaltbarer Form vorgefunden. Cystin liess sich als Spaltungsprodukt nicht nachweisen.

B. Darstellung. Zu 10 Liter Harn werden 86 g Calciumacetat, 53 g Bariumacetat und 43 ccm 21%iges Ammoniak hinzugegeben. Nach mehrstündigem Stehen enthält dann das Filtrat weder Schwefelsäure noch Phosphorsäure und ist auch beinahe frei von Harnsäure. Das überschüssige Ammoniak wird mit Essigsäure neutralisiert und das Filtrat mit einer Lösung von Kupferacetat versetzt, deren saure Reaktion vorher mit Ammoniak abgestumpft ist. Bald zeigt sich ein amorpher grünlichgrauer Niederschlag, welcher nach 24 Stunden auf einem Büchnerfilter gesammelt und sorgfältig mit Wasser ausgewaschen wird. Die Darstellung des freien Urochrom aus der Kupferverbindung kann in folgender Weise erfolgen. Die in Wasser suspendierte Kupferverbindung wird mit Schwefelwasserstoff zerlegt bei 45—50°, das Filtrat vom Schwefelkupfer wird bei 40—45° im Vakuum in CO_2-Atmosphäre zum Sirup eingedampft. Der Sirup wird in 97%igen Alkohol eingegossen, wobei ein ziemlich reichlicher flockiger Niederschlag entsteht. Die alkoholische Lösung von gesättigt gelber Farbe wird mit 2—3 Vol. Äther versetzt, wobei ein reichlicher, flockiger, amorpher, dunkelgelber Niederschlag ausfällt. Dieser Niederschlag wird auf gehärtetem Filter gesammelt, im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet und gepulvert. Die Ausbeute des freien Urochrom betrug 0,5—0,7 g aus 100 Liter Harn.

Die Darstellung des Silbersalzes aus dem Kupfersalz erfolgt in folgender Weise. Der Kupferurochromniederschlag wird bei 50° mit SH_2 zerlegt, der überschüssige SH_2 im Vakuum in CO_2-Atmosphäre bei gelindem Erwärmen verjagt. Die gelblichrote Flüssigkeit wird mit einem kleinen Überschuss von Barytlösung versetzt; ein gelber flockiger Niederschlag, der etwas Urochrom mit niederreisst, wird abfiltriert. Im Filtrat wird der Barytüberschuss sofort mit CO_2 entfernt, die Flüssigkeit im Vakuum konzentriert und aus dem erhaltenen Sirup das Bariumurochromsalz vermittels starken Alkohols in Form von amorphen Flocken gefällt. — Zur Bereitung des Silbersalzes wird das Bariumurochrom in Wasser gelöst, mit Natriumsulfatlösung versetzt und zwar so, dass eher ein kleiner Überschuss von Bariumsalz verbleibt als ein Überschuss von Natriumsulfat. Nach Konzentrieren der Lösung im Vakuum wird das

Digitized by Google

Chlor (das dem Baryturochrom von der Darstellung her anhaftet [0,72 g auf NaCl berechnet in 10 g Bariumurochrom]) mit Silbernitrat gefällt, das Filtrat vom Silberchlorid mit Alkohol und einem Überschuss einer konzentrierten Silbernitratlösung versetzt. Das ausfallende Silbersalz wird zunächst mit schwachem Alkohol, und wenn das Filtrat die Reaktion auf Nitrat nicht mehr gibt, mit starkem Alkohol und Äther gewaschen und dann getrocknet.

C. Bestimmung des Urochrom.

1. Nach Browinski und Dombrowski in der Vereinfachung von Marischler.

A. Prinzip. Die Methode beruht auf dem Vermögen des Urochroms, Jodsäure unter Abscheidung von Jod zu reduzieren.

B. Ausführung. 200 ccm Harn werden mit 60 g Chlorammonium zur Entfernung der Harnsäure versetzt. Es wird abfiltriert und dann 5 ccm einer 5%igen Lösung von Jodsäure hinzugegeben. Das abgeschiedene Jod wird in einem Scheidetrichter mit Schwefelkohlenstoff ausgezogen und in dieser Lösung mit n/100 Natriumsulfatlösung titriert. Aus der gefundenen Jodmenge wird durch Multiplikation mit dem Faktor 0,8452 der N-gehalt des Urochroms festgestellt. Da das Urochrom 11,15% N enthält, so kann man aus dem N-gehalt dann den Urochromgehalt berechnen.

Von reinem Urochrom, nach Dombrowski dargestellt, machen 0,2049 g 0,02703 g Jod aus Jodsäure frei; daraus ergibt sich der obige Faktor 0,8452. — Die Entfernung der Harnsäure ist notwendig, da Harnsäure ebenfalls Jodsäure unter Ausscheidung von Jod reduziert.

Browinski und Dombrowski isolierten zuerst den Farbstoff und machten dann mit der Lösung des Farbstoffes die Bestimmung. 800—1000 ccm Harn wurden zunächst mit einer ammoniakalischen Lösung von Calcium- und Bariumacetat behufs Entfernung von Harnsäure, Phosphorsäure und Schwefelsäure behandelt (s. bei Darstellung). Dann wurde der Farbstoff mit Kupferacetat gefällt. Der Kupferniederschlag wird mit Schwefelwasserstoff (bei 50^{0}) zerlegt. Der überschüssige Schwefelwasserstoff im Vakuum mit Kohlensäure verdrängt. Die Farbstofflösung (150 bis 200 ccm, eventuell im Vakuum auf dieses Volum eingeengt) wird dann wie oben beschrieben mit Jodsäure versetzt usw.

2. Bestimmung nach Dombrowski.

A. Prinzip. Durch Kupferacetat werden neben dem Urochrom auch Purinkörper gefällt. Bestimmt man den Stickstoffgehalt des Kupfer-

Digitized by Google

niederschlages und ausserdem den N-anteil der Purinstoffe, so ergibt die Differenz den Urochromstickstoff.

B. Ausführung. Der in grösserem Zeitraum (48—72 Stunden) abgesonderte Harn wird mit Barythydrat und Bariumacetat ausgefällt. Es wird filtriert und mit Kupferacetat gefällt. Der N-gehalt des Kupferniederschlages wird nach Kjeldahl bestimmt. In einer anderen Portion wird der Kupferniederschlag in Ammoniak gelöst und dann ungeachtet eines noch ungelöst zurückbleibenden Rückstandes mit ammoniakalischer Lösung von Silbernitrat versetzt. Der entstehende Niederschlag der Silberverbindungen der Purinkörper wird nach Kjeldahl analysiert. Die Differenz der beiden Bestimmungen ergibt den Urochromstickstoff. Urochrom hat 11,15 % N.

Frisch gefälltes, reines Urochromkupfersalz ist in Ammoniak leicht löslich; aus dieser Lösung wird Urochrom im Gegensatz zu den Purinkörpern durch ammoniakalische Silberlösung nicht gefällt.

Vergleichende Versuche haben ergeben, dass bei Behandlung mit Krüger-Wulffschem Reagens (Lösung von schwefelsaurem Kupfer und Natriumsulfit) das Urochrom weniger vollständig ausgefällt wird, wie einfach durch Kupferacetat. Es ist das auffallend, da das Urochromkupfer eine Oxydulverbindung ist. Es muss also das Kupferoxyd zunächst zu Oxydul reduziert werden. Es war zu erwarten, dass durch diese Reduktion, die sich voraussichtlich auf Kosten des Urochroms vollzieht, ein Verlust an Urochrom eintrete.

Die nach der Kupfermethode erhaltenen Werte stimmen in der Grössenordnung mit denen nach dem Jodverfahren erhaltenen überein.

II. Das Urochrom von Hohlweg[1]).

A. Eigenschaften. 1. Das Urochrom stellt ein feines braunes Pulver dar, welches in Wasser und Eisessig leicht löslich ist. Es ist noch ziemlich löslich in Methylalkohol und verdünntem Äthylalkohol, unlöslich in absolutem Alkohol, Amylalkohol, Aceton, Benzol, Chloroform, Ligroin, Äther und Essigäther. Es stimmt also in seinen Löslichkeitsverhältnissen mit dem Urochrom von Garrod und von Dombrowski überein.

2. Die wässerige Lösung hat deutliche Harnfarbe; sie zeigt keinen Absorptionsstreifen im Spektrum. Mit ammoniakalischer Chlorzinklösung tritt nicht die Reaktion des Urobilin auf (s. dort).

3. Der Farbstoff wird durch Silbernitrat als rotbrauner, durch Quecksilberacetat als gelber Niederschlag, beidemal unter vollständiger Entfärbung gefällt. Die Fällungen mit Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Kupferacetat,

[1]) H. Hohlweg, Biochem. Zeitschr. 13. 199. 1908.

Bleiessig sind weniger vollständig. Also auch hier im wesentlichen Übereinstimmung mit den beiden anderen als Urochrom beschriebenen Stoffen.

4. Nach kurzer Behandlung der Farbstofflösung mit einem Acetaldehyd in der Wärme und nachherigem Zusatz von ammoniakalischer Chlorzinklösung trat nicht sofort, wohl aber bei 24 stündigem Stehen an der Luft eine ausserordentlich deutliche, grüne Fluorescenz ein. Im Spektrum war eine diffuse Absorption am stärker gebrochenen Ende des Spektrums vorhanden, aber nicht der charakteristische Streifen des Urobilin, den Garrod mit seinem Urochrom unter gleichen Bedingungen beschreibt (s. dort und bei Urochrom Dombrowski).

5. Die Substanz zeigt sehr deutlich die Molischsche Reaktion mit α-Naphthol, und eine ausserordentlich starke Fichtenspanreaktion.

6. Die Analyse des Rohproduktes ergab C 47,58 %, H 6,30 %, N 9,89 %, also C:H:N = 5,62:8,86:1.

7. Ein Versuch, durch Einwirkung von Jodwasserstoff und Phosphoniumjodid Hämopyrrol zu gewinnen, verlief negativ.

8. Das Urochrom war im Gegensatz zu dem von Dombrowski dargestellten schwefelfrei. Trotzdem glaubt Hohlweg annehmen zu können, dass sein „Rohurochrom der Hauptmenge nach aus demselben Pyrrolderivat besteht, wie das von Dombrowski mit Hilfe der Kupfermethode dargestellte".

B. Darstellung des Urochrom nach Hohlweg-Salomonsen.

Prinzip. Das Urochrom wird zunächst durch Tierkohle dem Harn entzogen. Der Farbstoff wird dann der Tierkohle durch Eisessig entzogen und aus der Eisessiglösung entweder durch Ausfällen mit Äther oder durch Verdunsten des Eisessig die Substanz gewonnen.

Die Abtrennung des Harnfarbstoffes durch Tierkohle hatten früher Kramm und auch Klemperer[1]) benutzt.

Ausführung nach Hohlweg-Salomonsen[2]). Normaler Harn wird durch Kalkmilch alkalisch gemacht, mit Chlorcalciumlösung vollständig ausgefällt, das Filtrat mit Salzsäure neutralisiert und nun bei

[1]) W. Kramm, Deutsche med. Wochenschr. 1896. 25 u. 42. — G. Klemperer, Berliner klin. Wochenschr. 1903. 313; Münchner med. Wochenschr. 1903. 269.

[2]) H. Hohlweg l. c. — K. E. Salomonsen, Biochem. Zeitschr. 13. 205. 1908.

niederer Temperatur im Vakuum zum Sirup eingeengt. Nach Erkalten und Stehen wurde der flüssige Anteil von dem in grossen Mengen auskrystallisierten Kochsalz getrennt; doch setzen sich bei weiterem monatelangem Stehen immer wieder Krystalle ab. Der dickflüssige klare, schwarzbraune Sirup wird nun mit Tierkohle behandelt.

Hohlweg schüttelt mit reiner, nicht allzu feiner Tierkohle in der Schüttelmaschine mehrere Stunden. Die Tierkohle wird alsdann auf dem Filter gesammelt; die filtrierende Flüssigkeit war zunächst noch mehr oder weniger intensiv gefärbt, wurde aber nach einer erneuten gleichen Behandlung mit frischer Tierkohle fast vollkommen farblos erhalten.

Salomonsen umgeht das Schütteln, indem er den eingeengten Harn durch ca. 5 cm breite und 50 cm lange, mit Tierkohle gefüllte Glasröhren langsam filtriert. Es war eine Einrichtung getroffen, welche bewirkte, dass der Harn nur ganz langsam, tropfenweise abfloss. Man kann das erreichen, indem man das Filtrierrohr mit einem eng ausgezogenen Glasrohr endigen lässt, oder indem man ein Gummistück mit einer Glasspitze ansetzt, ähnlich wie bei einer Burette, und nun die Weite des Gummistückes durch eine Klemmschraube entsprechend einstellt.

Die auf dem Filter bzw. in dem Filterrohr befindliche Tierkohle wird mit heissem Wasser bis zur Chlorfreiheit gewaschen. Dabei laufen nur die ersten Portionen noch gefärbt ab, während nachher das Wasser keine Spur von Farbstoff mehr aufnimmt. Die Tierkohle wird dann auf Tontellern bei 40° getrocknet. Die getrocknete Tierkohle wird nunmehr mit konzentriertem Eisessig, und zwar etwa $^1/_3$—$^1/_2$ des ursprünglich verwandten Harnsirups, ausgezogen. Hohlweg tut das wieder in der Schüttelmaschine, Salomonsen indem er die Tierkohle in das Filterrohr zurückbringt und nun langsam den Eisessig hindurchfliessen lässt.

Aus der Eisessiglösung, die intensiv dunkelbraun mit einem Stich ins Rötliche ist, wird der Eisessig im Vakuum bei 25° abdestilliert, der erhaltene Rückstand wird zur Entfernung des anhaftenden Eisessigs mehrmals mit Äther behandelt. Es hinterbleibt dann das Urochrom als brauner, pulverisierbarer Körper.

Eine andere Art der Gewinnung des Urochroms besteht nach Hohlweg darin, dass der Eisessigauszug mit dem 10 fachen Volumen Äther gefällt wird. Es scheiden sich dann dunkelbraune Massen ab, die nach zweimal 24 stündigem Trocknen bei 40° in der Reibschale sich zu einem feinen braunen Pulver verarbeiten lassen.

Salomonsen engt den Eisessigauszug bei 35—40° im Vakuum ein und versetzt dann den dickflüssigen Rückstand mit dem 10 fachen Volum Äther.

Digitized by Google

Aus 500 ccm eingedampftem Harn, entsprechend 25 Liter gewöhnlichem Harn, konnte Hohlweg 3,1 g Substanz erhalten.

Darstellung nach Kramm [1]). Der Farbstoff wird, wie oben beschrieben, an Tierkohle gebunden und die Tierkohle ausgewaschen und getrocknet. Dann wird die Tierkohle mit einer wasserfreien gesättigten Phenolalkohollösung ausgezogen, in welche zwar gelblich gefärbte Stoffe aus der Kohle, aber kein eigentlicher Harnfarbstoff hineingeht. Wenn diese Lösung nichts mehr aufnimmt, dann wird mit wasserfreier, gesättigter Phenolchloroformlösung ausgezogen. Aus dieser Lösung ist der Farbstoff durch Verdunsten des Chloroforms im Vakuum und Fällung mit Äther oder mit absolutem Alkohol zu gewinnen.

Darstellung nach Klemperer [2]). Harn wird mit Tierkohle bis zur Entfärbung geschüttelt, die Tierkohle wird mit Wasser gut ausgewaschen (wobei Indican weggeht), die getrocknete Tierkohle wird dann mit Alkohol extrahiert. Diese Extrakte benutzt Klemperer dann zur kolorimetrischen Abschätzung des Harnfarbstoffes. Einen praktischen Wert kann man diesen Schätzungen kaum zusprechen. Zum Vergleich diente Echtgelb (v. Seitz).

III. Das Urochrom nach Garrod [3]).

A. Herkunft. Für die Identität des von Garrod dargestellten Farbstoffes mit dem im Harn vorkommenden sprechen folgende Umstände. Lösungen des Urochroms besitzen je nach ihrer Konzentration die Farbe des normalen Harns in allen ihren Tönen von gelb durch orange bis braun. Der Farbstoff selbst weist, wie der Harn selbst, vor dem Spektroskop keine Absorptionsstreifen auf. Entsprechend seiner Unlöslichkeit in Äther wird durch Äther dem Harn kein Farbstoff entzogen. Die Harnsäure scheidet sich aus Lösungen des Harnfarbstoffes nach Farbe und Form so aus, wie aus dem Harn.

Für seine verwandtschaftlichen Beziehungen zu anderen Farbstoffen ist die von Riva mitgeteilte Tatsache wichtig, dass Urobilin bei vorsichtiger Oxydation mit Permanganat einen dem Urochrom ähnlichen Farbstoff liefert.

B. Eigenschaften. 1. Nach den Ermittelungen von Garrod ist das Urochrom stickstoffhaltig, aber eisenfrei und ist, da es eine deutliche Xanthoproteinreaktion gibt, den aromatischen Verbindungen zuzuzählen. Es verhält sich wie eine Säure, seine Lösungen reagieren aber auf Lackmus amphoter. Auf dem Platinblech verbrennt der Farbstoff unter Abscheidung von viel Kohle.

2. In trocknem Zustand ist das Urochrom amorph und braun, ausserordentlich hygroskopisch, nach dem Verweilen über Schwefelsäure aber hart. In der Kälte ist es so gut wie geruchlos, auf dem Wasserbade aber erweicht es und riecht dann schwach urinös.

---

[1]) W. Kramm, l. c.
[2]) G. Klemperer, l. c.
[3]) A. E. Garrod, Proceed. of the Roy. Soc. 55. 394. 1894.

Digitized by Google

3. Es löst sich in Wasser sehr leicht, leicht auch in rektifiziertem Weingeist, viel weniger leicht aber in absolutem Alkohol; beim Abdampfen seiner alkoholischen Lösung büsst es etwas von seiner Löslichkeit in Alkohol ein. Essigäther, Amylalkohol sowie Aceton lösen es nur spärlich. In Äther, Chloroform, sowie Benzol ist es ganz unlöslich, Mischungen von Äther oder Chloroform mit Alkohol lösen es aber einigermassen.

4. Seine Lösungen zeigen, auch nach Zusatz einer Säure, nur eine diffuse Absorption des Spektrums von der violetten Seite her; Zusatz von Chlorzink und Ammoniak ruft keine Fluorescenz hervor.

5. Gegen Metallsalze verhält sich der Farbstoff ganz so wie das Urochrom von Thudichum. Die Lösung wird fast vollständig entfärbt durch die Bleiacetate, Silbernitrat und essigsaures Quecksilberoxyd; dem gelben Quecksilberniederschlag kann der Farbstoff zwar durch salzsäurehaltigen Alkohol entzogen werden, aber mit brauner Farbe, also nicht mehr unverändert. Essigsaures Quecksilberoxydul gibt keinen Niederschlag. Phosphorwolfram- und Phosphormolybdänsäure fällen den Farbstoff gleichfalls.

6. Das Urochrom erleidet sehr leicht Zersetzungen.

Die alkoholische Lösung des Farbstoffes hält sich lange Zeit unverändert, die wässerige Lösung dagegen wird braun, auch in verschlossener Flasche, schneller in der Wärme oder beim Abdampfen. Durch einen Zusatz von etwas Ammoniak kann diese Zersetzung hintangehalten werden. Alkalien ändern die Farbe der verdünnten Lösung nicht, konzentrierte wird aber etwas brauner. Geringe Mengen einer Mineralsäure ändern die Farbe der Lösung nicht sofort, grössere aber färben rötlich braun. Zink und Salzsäure entfärben die Lösung, wie den Harn selbst; Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd ruft die Fäbrung nicht wieder hervor. Beim Erwärmen mit Salzsäure oder Schwefelsäure auf dem Wasserbade wird die Lösung des Farbstoffes, auch wenn sie frei ist von Indoxylschwefelsäure, braun und hinterlässt beim Verdunsten einen fast schwarzen Rückstand, Wasser löst einen Teil desselben. Diese Lösung ist orangefarben ähnlich einer Lösung des unveränderten Farbstoffes, nur etwas dunkler, und der in Lösung befindliche Körper löst sich nach dem Verdunsten kaum in Alkohol, erteilt aber Chloroform eine gelbe Farbe. Dem ursprünglichen, mit Wasser behandelten schwarzen Rückstand entzieht Alkohol mehr Farbstoff mit Sepiafarbe; die Lösung weist aber keine Absorptionsstreifen auf. Die heisse alkoholische Lösung setzt beim Erkalten einen dunklen pulverigen, amorphen Niederschlag ab. Der übrige, in Wasser und in Alkohol unlösliche Rest des Rückstandes löst sich nicht in verdünnten Säuren, kaum in Amylalkohol, aber leicht in starkem Ammoniak, verhält sich also wie das Uromelanin von Thudichum. Auch diese Lösung bot keine Absorptionsstreifen dar.

7. Bei der Behandlung von reinem Urochrom mit reinem Aldehyd erhielt Garrod[1]) einen dem Urobilin ähnlichen Farbstoff.

Das verwendete Urochrom war so rein als möglich, zeigte kein Absorptionsband und war völlig frei von dem Chromogen des Urobilins. Die Bildung des Urobilins erfolgte mit der neutralen alkoholischen, aber nicht der wässerigen Lösung

[1]) A. E. Garrod, Journ. of Physiol. 21. 190. 1897.

Digitized by Google

des Urochroms oder dem Harne selbst, schon in Zimmertemperatur, schneller in der Wärme. Das entstandene Urobilin zeigte ein dem des Urobilins vollständig gleiches Absorptionsband, und auf Zusatz von Chlorzink und Ammoniak trat eine schön grüne Fluoreszenz und der Streifen des Urobilinzinks auf. Von dem natürlichen Urobilin aus Harn unterschied sich der Farbstoff aber in ähnlicher Weise wie das künstliche aus Bilirubin und Hämatin dargestellte Auch das von Riva aus natürlichem Urobilin gewonnene Urochrom gab bei der Behandlung mit Aldehyd ein Urobilin, welches mit dem natürlichen ähnliche Unterschiede darbot wie jene. Das nach Kramm dargestellte Urochrom verhielt sich wie das von Garrod.

8. Fällt Harnsäure aus einer mit Urochrom versetzten Lösung aus, so besitzen die Krystalle die gelbe bis braune Farbe und die Wetzsteinform, wie die aus Harn spontan auskrystallisierte Harnsäure; wird die Harnsäure aus der Lösung durch Zusatz einer Säure abgeschieden, so ist sie so braun gefärbt wie die aus Harn durch Säuren gefällte Harnsäure.

C. Darstellung. a) Nach Garrod. Das Verfahren beruht darauf, dass dem mit Ammonsulfat gesättigten Harn das Urochrom durch absoluten Alkohol entzogen wird; es ist mit grossen Verlusten verbunden.

Es werden 0,5—1 Liter konzentrierter normaler Harn in gelinder Wärme mit Ammonsulfat gesättigt. Das Filtrat ist rein goldgelb, aber etwas blasser als der verwendete Harn. Der Niederschlag enthält das Urobilin, das Hämatoporphyrin, das Uroerythrin und etwas Urochrom. Auch von einem urobilinreichen pathologischen Harn erhält man ein Filtrat von ebenso rein gelber Farbe wie aus normalem, ohne den Urobilinstreifen; dagegen enthält das Filtrat Spuren Hämatoporphyrin und ausserdem Indoxylschwefelsäure.

Das Filtrat wird mit absolutem Alkohol versetzt. Es fällt Ammonsulfat aus und wenn man nicht viel Alkohol genommen hat, so sammelt sich auf der Salzlösung eine klare gelbe Schicht Alkohol an, welche die Hauptmenge des gelben Farbstoffes enthält. Garrod macht über die Menge des Alkohols, die man zu verwenden hat, keine näheren Angaben; Huppert hielt 2—3 Volumen absoluten Alkohol auf 10 Volumen salzgesättigten Harn für das günstigste Verhältnis. Die geringen Mengen Farbstoff, welche in der Salzlösung zurückbleiben, lassen sich ihr zwar durch nochmalige Behandlung mit Alkohol entziehen, die Ausbeute ist aber so gering, dass sie den Verbrauch von Alkohol nicht lohnt. Verwendet man statt absoluten Alkohol rektifizierten Weingeist, so braucht man eine beträchtlich grössere Menge.

Den alkoholischen Auszug giesst man in viel Wasser und sättigt abermals in gelinder Wärme mit Ammonsulfat, worauf sich die alkoholische Farbstofflösung wieder abscheidet. Man verliert dabei etwas Urochrom, entfernt aber dafür Harnstoff und andere Beimengungen in vorteilhafter Weise. Die orangegoldgelbe alkoholische Lösung mischt sich nicht mit Chloroform, weil sie noch Wasser und Ammonsulfat enthält. Um diese zu beseitigen, giesst man die Lösung auf festes Ammonsulfat und erwärmt schwach; es bilden sich zwei Schichten, von denen die untere das meiste des vorher in Lösung gewesenen Ammonsulfates aufgenommen hat. Die aufschwimmende Lösung wird dann auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet, wobei man sie aber durch zeitweiligen Zusatz von Ammoniak alkalisch zu halten hat, um die Zersetzung der noch beigemengten Indoxylschwefelsäure zu verhindern. Der braune, in der Wärme halbflüssige, in der Kälte erstarrende, stark urinös riechende Rückstand enthält noch etwas Ammonsulfat und Indoxylschwefelsäure. Er wird ein- oder zweimal mit Essigäther gewaschen, welcher die Indoxylschwefelsäure, aber nur wenig gelben Farbstoff wegnimmt.

Digitized by Google

Man lässt dann den Rückstand einige Stunden in verschlossener Flasche unter absolutem Alkohol stehen und erhält so eine schön gelbe Lösung; ein weiterer Anteil des Farbstoffes kann dem Rückstand durch eine zweite Extraktion mit absolutem Alkohol entzogen werden. Durch das Verweilen unter Alkohol scheint das Urochrom teilweise an Löslichkeit in Alkohol eingebüsst zu haben; löst man jedoch diesen Rest des Rückstandes in Wasser und wiederholt die Darstellung des Farbstoffes wie mit dem Harn, so erhält man jetzt eine von Indoxylschwefelsäure freie Lösung.

Der zuerst erhaltene alkoholische Auszug scheidet auf Zusatz von Salzsäure und einer Spur Chlorkalk noch Indigo ab. Er wird so weit konzentriert, bis seine Farbe reich orange geworden, dann in etwas mehr als sein Volumen Äther gegossen und der dabei amorph ausfallende Farbstoff auf einem mit Äther befeuchteten Filter gesammelt. Ein Teil des Farbstoffes bleibt im Filtrat gelöst. Enthält die eingedampfte Lösung Wasser, so fällt der Farbstoff auf Zusatz von Wasser nicht in fester Form aus, sondern es scheiden sich einige Tropfen sehr konzentrierter Farbstofflösung ab, die mit durch das Filter gehen. Zur weiteren Reinigung wird das trocken gewordene Filter mit dem an ihm haftenden Farbstoff zunächst einige Zeit in Chloroform eingeweicht, das dabei farblos bleibt, dann in absolutem Alkohol, welcher Farbstoff aufnimmt, aber nicht so leicht als vorhin. Lässt man das Filter dann einige Stunden in Wasser liegen, so erhält man eine orangefarbene oder gelbe Lösung, die keine Indigoreaktion mehr geben darf. Die Lösung zeigt keinen Spektralstreifen, ist also frei von solchen Farbstoffen. Aber es ist möglich, dass sie noch etwas Harnstoff enthält, wie man daran erkennt, das sie auf Zusatz von Bromlauge eine geringe Menge Stickstoff entwickelt, um so weniger aber, je gründlicher das Filter mit dem gefällten Farbstoff mit Äther gewaschen wurde. Beim Verbrennen hinterliess der Farbstoff noch eine Spur in Wasser leicht lösliche weisse Asche, welche keine Kohlensäure enthielt und anscheinend nur aus Natriumphosphat bestand.

b) Nach Kramm[1]). *α*) Schüttelt man 4—5 Volumen Harn mit 1 Volumen 90%iger Phenollösung (Acid. carbol. liquefactum), so erscheint, wenn nach 12 bis 24 Stunden Scheidung eingetreten ist, der (aufschwimmende) Harn nur in dicker Schicht schwach hellgelb, das Phenol braun. Der Rest im Harn noch enthaltener Farbstoffe kann zugleich mit dem gelöst gebliebenen Phenol durch Sättigen des Harns mit Kochsalz oder Natriumsulfat, am vollkommensten mit Ammonsulfat entzogen werden; das ausgesalzene Phenol ist dunkelbraun. Versetzt man das Phenol mit dem gleichen Volumen Äther (oder Essigäther, Chloroform, Benzol, Amylalkohol) und schüttelt mit Wasser, so wird die (obere) ätherische Phenollösung mattrosa bis rubinrot (von Urobilin und Hämatoporphyrin), die wässerige (untere) Schicht gelb; diese zeigt die diffuse, von grün bis violett reichende Absorption einer Urochromlösung und enthält neben dem Urochrom noch viel andere organische und anorganische Substanzen, von denen sie nicht befreit werden konnte.

β) Man schüttelt Harn mit guter Tierkohle, wäscht sie chlorfrei, trocknet sie im Vakuum und erschöpft sie mit einer gesättigten alkoholischen Phenollösung, welche das Urobilin aufnimmt. Die Kohle wird darauf mit einer gesättigten Lösung von Phenol in Chloroform behandelt, das Chloroform im Vakuum verdunstet und aus dem rückständigen Phenol das Urochrom durch Alkohol oder Äther gefällt.

c) Verfahren von Bocchi[2]).

Der Harn wird mit Ammoniumsulfat gesättigt, nach 12stündigem Stehen abfiltriert und aus dem Filtrat der Farbstoff mit absolutem Alkohol ausgezogen. Die alkoholische Lösung wird in viel Wasser ge-

[1]) W. Kramm, Deutsche med. Wochenschr. **2** u. **3**. 1896. 25 u. 42.
[2]) O. Bocchi, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. **11**. 79. 1907.

Digitized by Google

gossen, mit Ammoniumsulfat gesättigt, die abgeschiedene Pigmentlösung mit dem Scheidetrichter abgetrennt und nach Zusatz von etwas festem Ammoniumsulfat im Vakuum bei höchstens 25° verdunstet. Dieselbe Operation wiederholt man mit der im Scheidetrichter nach einiger Zeit sich wieder abscheidenden Pigmentlösung. Der Rückstand wird mit absolutem Alkohol aufgenommen, eingeengt, dann in Wasser gelöst und nach Zugabe einiger Tropfen sehr verdünnter Essigsäure mit basischem Bleiacetat gefällt. Der Niederschlag wird auf dem Filter mit viel Wasser durch Dekantieren wiederholt gewaschen, dann mit einer 20%igen Na_2HPO_4-Lösung durch tüchtiges Umschütteln während einiger Minuten zerlegt. Die Mischung wird in absoluten Alkohol gegossen, filtriert und das Filtrat mit viel Wasser verdünnt, mit Ammoniumsulfat gesättigt und wie vordem behandelt. Endlich nimmt man den Rückstand mit Alkohol auf und fällt mit dem doppelten Volum Äther. Man erhält so rotbräunliche Flocken, die sich allmählich absetzen. Die so erhaltene Substanz, mit Alkohol gut gewaschen, stellt eine amorphe Masse dar, die alle Eigenschaften des sog. Urochrom hat. Sie unterscheidet sich von dem sonst nach Garrod erhaltenen Produkt dadurch, dass sie indican- und harnstofffrei ist und von basischem Bleiacetat vollkommen gefällt wird.

Dieses Urochrom sowie die in einigermassen reinem Zustande erhaltenen Kupfer- bzw. Silbersalze wurden analysiert. Die Analysenresultate hat Bocchi aber noch nicht mitgeteilt.

D. Nachweis. Eigentümlich für das Urochrom ist seine Unfällbarkeit beim Sättigen seiner Lösung mit Ammonsulfat, seine Farbe und sein Spektrum, d. h. vor allem das Fehlen charakteristischer Streifen, und die leichte Zersetzung desselben durch Säuren in braune oder schwarze Substanzen. Die Unlöslichkeit in Äther hat es unter den Harnfarbstoffen mit dem Urorosein gemein, die Fällbarkeit durch Phosphorwolframsäure (oder Phosphormolybdänsäure), Bleiacetat mit anderen Harnfarbstoffen.

IV. Das Urochrom nach Thudichum.

Thudichum[1]) erhielt sein Urochrom nach verschiedenen Methoden, von welchen hier nur eine wiedergegeben wird, in betreff der übrigen aber auf das Original verwiesen werden muss.

Zur Darstellung des Urochroms hat Thudichum den Harn zunächst mit Bariumhydrat und essigsaurem Baryt ausgefällt, wodurch wenigstens das Hämatoporphyrin entfernt wird. Nach 24 Stunden wird der Niederschlag abfiltriert und das Filtrat mit Bleizucker und Ammoniak ausgefällt; dabei werden Urobilin und Indoxylschwefelsäure mit niedergeschlagen. Den ausgewaschenen

[1]) Thudichum, Brit. med. Journ. **2.** 509. November 5. 1864; Schmidt's Jahrbücher **125.** 154; Journ. f. prakt. Ch. **104.** 257.

Digitized by Google

Bleiniederschlag zerreibt man in einer Porzellanschale mit verdünnter Schwefelsäure, sättigt im Filtrat die überschüssige Säure mit kohlensaurem Baryt ohne Anwendung von Wärme, macht das Filtrat mit Barytwasser alkalisch und behandelt mit Kohlensäure. Bei der Behandlung des Bleiniederschlages mit Schwefelsäure kann bereits eine Zersetzung des Urochroms eintreten. Garrod [1]) zog einen solchen Bleiniederschlag mit verdünnter kalter Schwefelsäure aus und neutralisierte sofort mit Ammoniak; der so gewonnene Farbstoff war einigermassen löslich in Äther und in Chloroform, während sich der unzersetzte Farbstoff in diesen Flüssigkeiten nicht löst.

Nach Thudichum wird dann weiter das Filtrat der mit Baryt von der Schwefelsäure befreiten Flüssigkeit jetzt mit einer Lösung von essigsaurem Quecksilberoxyd ausgefällt und der entstandene Niederschlag mit kaltem und heissem Wasser ausgewaschen. Die so erhaltene Quecksilberverbindung muss eine gelbe Farbe haben; ist sie grau oder dunkel gefärbt, so muss nach dem Zersetzen mit Schwefelwasserstoff die Behandlung mit Bleizucker etc. wiederholt werden. Aus dem möglichst reinen Urochrom-Quecksilberoxyd wird durch Schwefelwasserstoff der Farbstoff als gelbe Lösung gewonnen. Immer enthält diese Lösung noch etwas Salz- oder Essigsäure. Die Salzsäure kann man durch Schütteln mit frisch gefälltem Silberoxyd entfernen, wobei aber ein Teil des Urochroms sich mit dem Silber zu einem voluminösen Niederschlag verbindet, während die Flüssigkeit viel essigsaures Silberoxyd in Lösung enthält. Die gelbe alkalische Lösung wird endlich durch Schwefelwasserstoff vom Silber befreit, worauf das Filtrat nach dem Verdunsten auf dem Wasserbade das Urochrom als amorphe, feste, gelbe Substanz zurücklässt.

Das so erhaltene Urochrom bildet gelbe Krusten, die sich zum Teil in Wasser mit rein gelber Farbe lösen. Seine wässerige schwefelsaure, sowie die alkoholische Lösung zeigen nach Thudichum [2]) einen schwachen, schmalen Absorptionsstreifen zwischen F und G, der mit seinem linken Rande an F grenzt, dagegen keinen Streifen in der neutralen oder alkalischen Lösung, während das Urochrom von Garrod keinen Absorptionsstreifen aufweist. In Alkohol ist es schwer löslich, leichter in Äther, sehr verdünnten Mineralsäuren und Alkalien. Durch die Löslichkeit in Äther unterscheidet sich dieses Urochrom scharf von dem von Garrod dargestellten. Aus seinen alkalischen Lösungen wird es durch Säure nicht gefällt. Die wässerige Lösung wird mit der Zeit dunkler, schliesslich rot, trübt sich und setzt harzige Flocken ab. Erwärmen begünstigt die Zersetzung, namentlich bei Gegenwart von Säuren. Zucker wird dabei nicht gebildet. Aus der wässerigen Lösung wird das Urochrom durch Silbernitrat als gelatinöse, in Salpetersäure lösliche Masse gefällt; Bleizucker gibt einen weissen, flockigen Niederschlag. Bleiessig und essigsaures Quecksilberoxyd fällen gelblich. Salpetersaures Quecksilberoxyd gibt einen weissen Niederschlag, der beim Kochen fleischfarben wird, während die überstehende Flüssigkeit sich rosenrot färbt.

Durch Oxydation an der Luft wird das Urochrom zunächst rot. Unter dem Einfluss von Säuren liefert die gelbe lösliche, sowie die rote Substanz drei unlösliche Körper, die sich bei hinlänglich langem Kochen einer sauren Urochromlösung nach Zusatz von Wasser in braunen, sich zusammenballenden Klumpen absetzen. Beim Behandeln dieses Bodensatzes mit Alkohol bleibt ein braunes, in Ätzkali lösliches und daraus durch Essigsäure fällbares Pulver, das Uromelanin zurück. Die prächtig rubinrot gefärbte, alkoholische Lösung liefert durch Fällen mit Wasser ein rotes Harz, welches durch Äther in zwei Körper zerlegt werden kann. Die ätherische Lösung hat eine sehr schöne rote Farbe und enthält eine harzige Säure, die Omicholsäure. In Äther unlöslich bleibt eine gelbe Substanz zurück, das Uropittin, welches aus absolutem Alkohol krystallisiert erhalten wurde. Von diesen Zersetzungsprodukten zeigt das Uropittin (in alkoholischer Lösung) einen schwachen Streifen zwischen E und F, der etwas mehr nach Violett zu liegt, als

[1]) Garrod, Journ. of Physiol. **17.** 406.

[2]) Thudichum, Journ. of the chem. Soc. [2] **13.** 397 u. 401. 1875.

Digitized by Google

der Urobilinstreifen, und die ätherische Lösung des Omicholins, welche rot ist und grün fluoresziert, weist einen Streifen zwischen D und E, an D angrenzend, auf.

Thudichum[1]) hat auch das Verhalten seiner Harnfarbstoffe zu Benzoylchlorid untersucht.

V. Die Chromoxyproteinsäure von Bocchi und Ghelfi.

A. Vorkommen. Die von Bocchi und Ghelfi als Barytsalz isolierte, dem Harn eine gelblich-grüne Farbe verleihende Substanz ist vom Urochrom schwer zu unterscheiden. Oliari[2]) konnte das Vorhandensein dieser Säure, die als Träger der „Diazoreaktion" angesehen wird, in zahlreichen Fällen bei fieberhaften Erkrankungen von Kindern (Masern, Diphtherie, Pneumonie, Gastroenteritis, Cholera infantum), sowie auch bei allgemeiner, chronischer Tuberkulose und bei Knochentuberkulose dartun.

Die Chromoxyproteinsäure enthält nach Weisz das Urochromogen (s. dort).

B. Eigenschaften. 1. Die Substanz ist rötlich-braun, verleiht ihren Lösungen eine mehr oder weniger intensive, gelbe Farbe.

2. Sie enthielt S und N.

3. Sie verhält sich wie eine Säure; wird durch Bleiacetat nicht gefällt, bildet ein in Alkohol nicht lösliches, in Wasser leicht lösliches Barytsalz.

4. Die freie Säure ist in Wasser und Alkohol löslich, in Äther und Chloroform nicht löslich. Sie reagiert sehr stark mit dem Ehrlichschen Diazoreagens.

5. Sie wird durch Ammoniumsulfat nicht gefällt. Durch essigsaures und salpetersaures Quecksilber wird sie gefällt.

6. Sie gibt die Biuretreaktion nicht.

7. Das Barytsalz reagiert nicht mit dem Ehrlichschen Reagens.

VI. Das Urochrom von Weisz[3]).

A. Vorkommen und Bedeutung.

Neuerdings hat Weisz Anschauungen über die Natur und Entstehung des Harnfarbstoffes ausgesprochen, welche, wenn sie sich bewahrheiten, geeignet erscheinen wesentlich grössere Klarheit in dieses verwickelte Gebiet bringen.

[1]) Thudichum, Chem. News 68. 275. 1893; Chem. Zentralbl. 1. 176. 1894.

[2]) O. Bocchi u. A. Ghelfi, Il. Tommasi 2. 5. u. 15. Heft 1908. Jahresber. f. Tierch. 38. 815. — A. Oliari, Über das Vorhandensein von Chromoxyproteinsäure im Harn der Kinder. — Officina Fresching-Parma 1908. Jahresb. f. Tierch. 38. 815. 1908.

[3]) M. Weisz, Biochem. Zeitschr. 30. 333. 1911.

Digitized by Google

Nach Weisz ist das Urochrom Dombrowskis (s. dort) mit dem normalen Harnfarbstoff nicht identisch und spielt für die normale Harnfarbe eine untergeordnete Rolle. Der normale Harnfarbstoff ist neben dem Urochrom Dombrowskis in der durch Bleiessig fällbaren Proteinsäurefraktion enthalten, unterscheidet sich aber von dem Urochrom Dombrowskis dadurch, dass sein Bleisalz in Essigsäure löslich ist und auf diese Weise von dem Urochrom getrennt werden kann. Der normale Harnfarbstoff von Weisz ist hervorgegangen aus einem Urochromogen, welches in seinen Fällungsreaktionen mit den Proteinsäuren übereinstimmt. Dieses Urochromogen ist nach Weisz der eigentliche Träger der Ehrlichschen Diazoreaktion. Weisz unterscheidet zwei Urochromogene. Das Urochrom β, welches diese Reaktion ohne weiteres gibt und das Urochrom α, welches an sich keine Diazoreaktion gibt, wohl aber nach dem Stehen im Brütschrank. Beide Chromogene können durch Oxydation, z. B. mit Kaliumpermanganat, in das echte Urochrom des Harns übergeführt werden. Den Zusammenhang des echten Urochroms mit den Proteinsäuren drückt Weisz durch folgendes Schema aus.

Proteinsäurefraktion
(d. i. die Fraktion jener Substanzen, welche wasserlösliche durch Alkohol fällbare Barytsalze bilden).

- Alloxyproteinsäurefraktion (fällbar durch Bleiessig)
  - In verdünnter Essigsäure unlösliche Fraktion des Bleiniederschlags; (Urochrom Dombrowski, direkt durch Kupferacetat fällbar.)
  - In verdünnter Essigsäure lösliche Fraktion des Bleiessigniederschlags.
    - Echtes Urochrom (normaler Harnfarbstoff). ↑
    - farblose Alloxyproteinsäure.
- Antoxyproteinsäurefraktion (fällbar durch Quecksilberacetat bei schwach saurer Reaktion)
  - In überschüssiger Essigsäure unlösliche Fraktion des Hg-Acetatniederschlags: Antoxyproteinsäure des normalen Harns.
  - In überschüssiger Essigsäure lösliche Fraktion des Hg-Acetatniederschlags: Urochromogen. Geht durch Oxydation über in echtes Urochrom.
- Oxyproteinsäurefraktion (fällbar durch Hg-Acetat bei soda-alkalischer Reaktion)

Nach der Ansicht von Weisz ist die Antoxyproteinsäure von Bondzynski, Dombrowski und Panek ein Gemisch von Antoxy-

Digitized by Google

proteinsäure und Urochromogen. Dieser letzteren Beimengung soll der positive Ausfall der Diazoreaktion in der Antoxyproteinsäure von Bondzynski, Dombrowski und Panek zuzuschreiben sein. So würde es sich erklären, warum der normale Harn zwar Antoxyproteinsäure enthält, aber keine deutlich positive Diazoreaktion im Sinne Ehrlichs gibt.

In der Überführbarkeit des Urochromogens in Urochrom durch Oxydation ist ein Mittel gegeben, um kolorimetrisch den Gesamtgehalt an Urochrom zu bestimmen. Diese Bestimmungen ergaben, dass bestimmte Beziehungen zwischen Ausfall der Diazoreaktion und Gehalt an Urochromogen bestehen. Das Urochrom gibt keine Diazoreaktion. Mit der Überführung des Urochromogen β in Urochrom verschwindet in Diazoharnen die positive Diazoreaktion.

B. Kolorimetrische Bestimmung des Urochromogens und Urochroms nach Weisz.

Als Vergleichsfarbe wurde eine Lösung von Echtgelb (Müller, Leipzig) benutzt. Es wurde 1 g Echtgelb in 500 ccm dest. Wasser gelöst. Die Lösung war dunkelorangerot. Von dieser Lösung wurden 10 ccm auf 100 ccm und davon wieder 20 ccm auf 800 ccm mit Wasser verdünnt. Die letzte Verdünnung zeigte eine hellgelbe Farbe mit grünlichem Stich, wie sie auch den Urochromlösungen zukommt. Die Vergleichslösung enthält demnach 0,1 g Echtgelb auf 20 Liter Wasser. Die in 100 ccm dieser Farbstofflösung enthaltene Farbstoffmenge wurde = 100 gesetzt.

Ausführung. Zu 25 ccm Harn werden etwa 20 g fein pulverisiertes Ammoniumsulfat hinzugefügt. Unter häufigem Umrühren mit einem Glasstab löst sich der grösste Teil des Ammoniumsulfates. Nach etwa $^1/_2$ stündigem Stehen haben sich dem Urochrom beigemengte andere Farbstoffe (Urobilin und Urobilinogen, Hämatoporphyrin, Uroerythrin) abgeschieden. Hierauf wurde mit einer heiss gesättigten Ammoniumsulfatlösung auf 50 ccm aufgefüllt. Nach der Filtration sind früher sehr verschieden gefärbte Harne sehr wohl untereinander vergleichbar geworden. Von diesem Filtrat werden 10 ccm in einem Dubosqschen Kolorimeter (s. S. 680) mit 10 ccm obiger Echtgelbfärbung verglichen.

Wenn, in seltenen Fällen, die kolorimetrische Bestimmung durch zu starke, vom Urochrom Dombrowskis herrührende Braunfärbung erschwert wird, kann man den Farbstoff Dombrowskis zuerst mit Bleiacetat bei schwach saurer Reaktion entfernen und erst dann aussalzen. Es ergab sich aber dabei ein geringer Verlust des normalen Urochrom.

Digitized by Google

Zur Bestimmung des Urochromogen wurde eine zweite Portion des Harnes (25 ccm) unter öfterem Umschütteln tropfenweise mit einer 1 $^0/_{00}$ Permanganatlösung so lange versetzt, als noch eine deutliche Zunahme der Gelbfärbung zu sehen war. Dies erkennt man leicht an der oberen Grenze der Flüssigkeit, wo sich das Permanganat mit dieser vermischt. Die zuzusetzende Menge schwankt zwischen 10 und 30 Tropfen. Ein Überschuss ist zu vermeiden, weil der Harn dadurch einen störenden Stich ins Bräunliche erhält. Man kann auch so lange die Permanganatlösung hinzugeben, bis das Negativwerden der Ehrlichschen Diazoreaktion anzeigt, dass alles Urochrom verschwunden ist. Nach beendigter Oxydation wird ebenso verfahren wie mit dem ursprünglichen Harn. Die Differenz zwischen dem Urochromgehalt des nicht oxydierten und des oxydierten Harnes ergibt die Menge des Urochromogens. Diese Differenz ist nach Weisz ein direktes Mass für die Ehrlichsche Diazoreaktion.

Beispiel: Bei einer Tagesmenge von 900 ccm Harn habe sich ergeben, dass das Verhältnis von Echtgelblösung zu dem auf das zweifach verdünnten Harnfiltrat = 20 : 22 war, dann ist dieses Verhältnis zunächst wegen der Verdünnung des Harns zu verdoppeln auf 40 : 22 und es ergeben sich demnach $\frac{40 \cdot 900}{22}$ = 1636 Einheiten Echtgelb.

VII. Der Harnfarbstoff nach Schunck.

Schunck[1]) hat zwei Harnfarbstoffe unterschieden, das Urian und das Urianin. Um sie darzustellen, hat Schunck Harn mit Bleizucker gefällt, das Filtrat mit Bleiessig, diesen zweiten Niederschlag ausgewaschen, mit Schwefelwasserstoff oder verdünnter kalter Schwefelsäure zerlegt, die Flüssigkeit, wenn nötig, mit kohlensaurem Blei neutralisiert und darauf bei gewöhnlicher Temperatur im Luftstrom konzentriert. Der sirupöse Rückstand wurde in wenig Alkohol gelöst und viel mit Äther versetzt, wobei sich das Urianin, $C_{19}H_{27}NO_{14}$, abscheidet und das Urian, $C_{43}H_{51}NO_{26}$, in Lösung bleibt. Die Existenz eines dritten, in Alkohol und in Äther unlöslichen Körpers blieb dahin gestellt. Beide Körper zersetzen sich leicht beim Erhitzen mit Wasser oder verdünnten Säuren, das Urian gibt dabei einen braunen, harzartigen Körper: Uroretin, und das Urianin einen in Alkohol unlöslichen Niederschlag: Uromelanin. Dieser Befund weicht also noch weit mehr von dem Garrods ab, als der Thudichums.

VIII. Derivate des Urochroms und Verwandtes.

Die braunen oder schwarzen Farbstoffe, welche beim Behandeln des Harns mit Säuren entstehen, entstammen sicher zum Teil dem Urochrom, nach v. Udránszky aber auch den im Harn enthaltenen Kohlehydraten; diese bilden unter der Einwirkung von Säuren Huminsubstanzen (S. 1309). Rosin scheint geneigt, den Ursprung der dunkelgefärbten Farbstoffe, welche er beim Kochen des Harns mit Salpeter-

[1]) Schunck, Proceed. of the Roy. Soc. **15.** 1; **16.** 72. 126. 135; Journ. f. prakt. Ch. **97.** 382; Zeitschr. f. Ch. [2] **2.** 753. 1866; Jahresber. d. Ch. 1866. 750.

Digitized by Google

säure (Rosenbachsche Probe) neben Indigrot und Indigblau erhielt, gleichfalls von der Indoxylschwefelsäure abzuleiten. Der Gegenwart von Huminsubstanz schreibt v. Udránszky auch die dunkle Färbung zu, welche manche frisch entleerte Harne direkt darbieten. Hierher gehören auch die Karbolharne.

a) Uromelanin von Plósz[1]).

Das Uromelanin stellte Plósz in der Weise dar, dass er Harn bei Zutritt von Luft 10—20 Minuten mit 5—10% Salzsäure kochte, die entstandene braune Flüssigkeit mit Amylalkohol schüttelte, welcher den Farbstoff aufnimmt, und den Amylalkohol abdestillierte. Die erhaltene Substanz besass nach dem Waschen mit Wasser, schwacher Natronlauge und Salzsäure wesentlich dieselben Eigenschaften, wie die Huminkörper von v. Udranszky und wich nur in einigen Punkten von diesen ab. Die sehr bedeutende Ausbeute (5—6 g aus der Tagesmenge Harn) weist auf eine starke Verunreinigung durch Abkömmlinge des Amylalkohols hin; es bildete sich dabei auch der spektroskopisch dem Urobilin ähnliche Körper.

Bemerkenwert ist die Angabe von Plòsz, dass sich das Chromogen dem Harn durch blosses Schütteln mit erneuerten Mengen Amylalkohol so vollständig entziehen lässt, dass sich der Harn bei der nachträglichen Behandlung mit Säure nicht mehr färbt.

b) Das Uromelanin von Dombrowski[2]).

Der Stoff wurde von Dombrowski aus der rohen Kupferverbindung des Urochrom durch Erwärmen mit Säure dargestellt.

A. Eigenschaften. 1. Das Uromelanin stellt schwarze, glitzernde, wie Asphalt aussehende Körner dar. Es ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Äther, verdünnter Salzsäure, dagegen löslich in Ammoniak. Aus dieser Lösung wird es durch Ansäuern mit Salzsäure gefällt. Das in ganz verdünntem Ammoniak gelöste Uromelanin bleibt in Lösung, wenn das überschüssige Ammoniak durch Erwärmen und durch Stehenlassen über Schwefelsäure entfernt wird.

2. Das Uromelanin hat die Zusammensetzung C 59,19, H 4,56, N 10,63, S 3,44. Das Proteinochromogen von Nencki C 59,8, H 4,5, N 10,0, S 2,8.

3. Bariumsalz und Silbersalz sind in Wasser sehr schwer löslich. Das Uromelaninsilber enthielt 8,28% N, 2,53% S, 24,32% Ag. Aus den analytischen Daten berechnet sich die Formel des Uromelanin zu $C_{47}H_{44}N_7SO_{13}$.

B. Darstellung. Kupferurochrom wird mit dem 20 fachen Volum 10%iger Salzsäure 8 Stunden gekocht. Der gebildete schwarze Niederschlag wird auf ein Filter gebracht, mit Wasser zur Entfernung der Salzsäure gewaschen, dann mit Alkohol und mit Äther und zur Entfernung

[1]) Plósz, Zeitschr. f. physiol. Ch. 8. 89. 1883.
[2]) St. Dombrowski, Zeitschr. f. physiol. Ch. 54. 227. 1908; 62. 358. 1909.

Digitized by Google

freien Schwefels, welcher als Produkt dieser Hydrolyse sich regelmässig ausscheidet, mit Schwefelkohlenstoff gewaschen. Das Präparat kann durch Auflösen in verdünntem Ammoniak und Neutralisieren mit Salzsäure nochmals gereinigt werden.

C. Beziehungen des Uromelanin. Thudichum hat einen Stoff als Uromelanin beschrieben, den er folgendermassen darstellte. Er fällte mit Schwefelsäure angesäuerten Harn mit Phosphormolybdänsäure; das Filtrat wird mit Eisenchlorid gefällt und dieser letztere Niederschlag mit Schwefelsäure behandelt. Der so erhaltene melaninartige Stoff verdankt sicher neben dem Harnfarbstoff auch noch den Proteinsäuren seine Entstehung, ist also sicherlich nicht einheitlich gewesen. Dasselbe gilt von dem „schwarzen" Körper von Proust. Thudichum schreibt seinem Uromelanin die Formel $C_{36}H_{43}N_7O_{10}$ zu. Die Überlegungen von Mancini[1]), wonach das Uromelanin ein Anhydrit des „Uropyrrols" sei, bedürfen weiterer Kontrolle.

c) Bromuropyrryl.

Mit dem Namen Uropyrryl wurde auf Vorschlag Hofmeisters ein Stoff bezeichnet, dessen Bromprodukt Salomonsen und Mancini[2]) aus dem nach Hohlweg dargestellten Urochrom gewannen.

A. Eigenschaften. 1. Die reine bromierte Substanz stellt ein gelbes körniges Pulver dar. Die Substanz ist doppelbrechend, was für eine bessere Charakterisierbarkeit derselben spricht. Die Substanz ist löslich in heissem Wasser, etwas löslich in absolutem Alkohol, unlöslich in Äther, Chloroform, Amylalkohol, Phenol, Benzol. Alkalien lösen zu brauner Lösung, aus der Essigsäure bei genügender Konzentration einen braunen Niederschlag fällt.

2. Die möglichst wenig Alkali enthaltende Lösung fällt mit Kupferacetat, Kupfersulfat, Eisenchlorid, neutralem Bleiacetat.

3. Beim Erhitzen mit Zinkstaub oder mit Kalkhydrat geben die geringen Mengen sehr starke Pyrrolreaktion.

4. Sie enthält nach wiederholter Fällung mit Brom keinen Schwefel und ist dann nahezu oder ganz aschefrei.

5. Das Bromprodukt hat die Zusammensetzung C 35,12, H 3,50, Br 38,18, N 8,10, O 14,80. Es lässt sich daraus die Formel $C_{36}H_{41}Br_6N_7O_{12}$ berechnen. Dieser Formel entspräche die Zusammensetzung C 34,75, H 3,32, Br 38,58, N 7,90, O 15,45.

---

[1]) L. Proust, l. c. — Thudichum, Journ. f. prakt. Ch. **104**. 257. 1868; Compt. rend. de l'Acad. des sciences **106**. 1803. 1868. — St. Mancini, Biochem. Zeitschr. **13**. 208. 1908.

[2]) K. E. Salomonsen, Biochem. Zeitschr. **13**. 204. 1908. — St. Mancini, Ebenda **13**. 208. 1908. — Hohlweg, Ebenda **13**. 199. 1908.

Digitized by Google

Die Formel unterscheidet sich, wenn man die 6 Br durch 6 H ersetzt denkt, von der Thudichumschen Uromelaninformel nur durch ein Plus von 2 Wassermolekülen.

6. Beim Erwärmen des in Wasser verteilten Bromuropyrryls mit überschüssigem Brom auf dem Wasserbad geht nach einigen Minuten ein grosser Teil der Substanz in Lösung, während sich ein dunkel gefärbter bromreicher Sirup am Boden absetzt. Die Brombehandlung wurde 4 Stunden fortgesetzt. Der wasserunlösliche Anteil ist höchstwahrscheinlich Bromanil. In der Lösung liess sich Oxalsäure und eine ölige bromhaltige, schwefelfreie Säure, welche die Fichtenspanreaktion in ausgesprochener Weise gab, nachweisen.

B. Darstellung. Das Rohurochrom (das nach Möglichkeit durch Eindampfen im Vakuum bei 40° von Eisessig befreit sein muss, da sonst die Ausfällung des Bromproduktes behindert wird) wird in möglichst wenig Wasser gelöst, filtriert, und das braune Filtrat bei niedriger Temperatur am besten unter Eiskühlung mit überschüssigem Brom versetzt. Es fällt ein Niederschlag aus, der sich am Boden des Gefässes in Form eines dichten braunroten Sirups sammelt. Nach einigem Stehen auf Eis wird dekantiert und der Bodensatz mit Wasser gewaschen. Dabei verwandelt er sich unter Abgabe von überschüssigem Brom in eine gelbe breiartige Masse, die sich leicht mit Wasser auswaschen lässt. Zur weiteren Reinigung wird das Rohprodukt in Lauge gelöst, die Lösung filtriert und in möglichst konzentrierter Lösung leicht angesäuert. Der ausfallende braune, körnige Niederschlag wird in Wasser gelöst und die gesamte Lösung neuerlich mit Brom behandelt. Nach nochmaliger Wiederholung der Brombehandlung wird der körnige, schön gelbe Niederschlag in der Reibeschale reichlich mit Wasser gewaschen, dann abfiltriert über Kali und dann über Schwefelsäure getrocknet.

d) Die Huminsubstanz von Udránszky[1]).

A. Eigenschaften. Die von Udránszky aus dem Harn dargestellte Huminsubstanz bildet spröde, glänzende, schwarzbraune Plättchen, ist fast gar nicht löslich in kaltem Wasser, verdünntem Alkohol, Äther, Chloroform, verdünnten Säuren, sehr schwer in warmem Wasser, absolutem Alkohol, Petroläther, konzentrierter Schwefel- und Salzsäure, gut aber in Amylalkohol und in konzentriertem Ammoniak, sehr leicht in Kali- oder Natronlauge. Huppert berichtet, dass die Lösungen keine Absorptionsstreifen zeigen. Konzentrierte, etwas salpetrige Säure enthaltende Salpetersäure löst die Substanz mit schön roter, bald verblassender Farbe. Sie ist nicht sublimierbar; beim Erhitzen für sich entwickelt sie den Geruch nach Ameisensäure und hinterlässt beim Verbrennen eine Spur eisenfreie Asche. Die durch Schmelzen mit Kaliumhydrat entstehenden Produkte sind S. 1283 angegeben. 100 ccm Harn gaben 0,023—0,033, im Mittel 0,029 g Huminsubstanz.

[1]) L. v. Udránszky, Zeitschr. f. physiol. Ch. 11. 537. 1887; 12. 13. 1888.

Das Produkt aus normalem Harn enthielt 55,3—56,3% C, 4,2—4,4 H, 8,4—10,3 N; ein Präparat aus diabetischem Harn 55,8% C, 4,25 H, 10,0 N; aus Traubenzucker und Harnstoff gewonnene Huminsubstanz 57,8% C, 4,0 H, 6,7 N; der schwarze stickstofffreie, beim Schmelzen mit Kaliumhydrat bleibende Rückstand enthielt 62,0—62,7% C und 3,7—4,0 H.

B. Darstellung. Dargestellt wurde die Substanz, indem der Harn auf $^1/_4$ eingedampft mit 0,1 Volumen Salzsäure 48 Stunden stehen gelassen und das Filtrat gekocht wurde. Nach 2stündigem Kochen war schon der grösste Teil der Substanz gebildet, nach 18stündigem Kochen war das Maximum der Ausbeute erreicht. Das erhaltene feine schwarze Pulver wurde mit kaltem und warmem Wasser, mit Alkohol und Äther gewaschen, 3—4mal in Natronlauge gelöst und mit Schwefelsäure wieder gefällt und endlich über Schwefelsäure getrocknet. Ein in dem orangegelben oder kirschroten Filtrat gebliebener Rest konnte nach dem Neutralisieren mit Kreide durch phosphorsaures Natron zugleich mit dem Kalkphosphat niedergeschlagen werden.

Kommt bei der Darstellung der Substanz, wie bei dem Verfahren von Plósz, Amylalkohol in Anwendung, so ist die Ausbeute bedeutend grösser und das Produkt von anderer Beschaffenheit. v. Udránszky erhielt so aus 100 ccm Harn 0,052 und 0,068 g der Substanz und der braune, nach dem Abdestillieren des Amylalkohols bleibende Rückstand gab an warmes Wasser, sowie an Äther einen zitronengelben Körper ab, dessen konzentrierte wässerige Lösung, ähnlich wie eine Urobilinlösung, zwischen E und F des Spektrums und über F hinaus eine diffuse Absorption zeigte, beim Verdünnen einen schmäleren, gleichfalls nicht scharf begrenzten Streifen und ausserdem eine schwache grüne Fluorescenz besass. Diese besonderen Erscheinungen rühren nach F. Hoppe-Seyler von der Einwirkung der Salzsäure auf Amylalkohol her, welche schon bei gewöhnlicher Temperatur stattfindet, und sind nach v. Udránszky [1]) bedingt durch einen Furfurolgehalt des rohen Amylalkohols.

e) Die braunen bei der Rosenbachschen Probe entstehenden Stoffe.

Nach Rosin [2]) hinterlässt das Chloroform, mit welchem die beim Kochen des Harns mit Salpetersäure entstandenen Indigfarbstoffe gewaschen worden sind, beim Verdunsten eine braune Substanz, welche in Chloroform leichter löslich ist, als das Indigblau und Indigrot.

Ligroin nimmt aus ihr einen rotbraunen, schön fluorescierenden Farbstoff auf, welcher in Alkohol, Äther, Chloroform leicht löslich ist. Dem mit Ligroin behandelten Rückstand entzieht danach Äther noch einen rotbraunen, durch Ligroin als braunes Pulver fällbaren Körper, der sich auch in Alkohol und in Chloroform löst. Der nun bleibende dunkelbraune Rückstand löst sich nur in Chloroform und in Alkohol und wird durch Ligroin als dunkelbraunes Pulver niedergeschlagen.

f) Präformierte Huminsubstanz nach v. Udránszky [3]).

Die braune Substanz, von welcher v. Udránszky annimmt, dass sie präformiert im Harn vorkommt, wurde von ihm aus Pferdeharn gewonnen.

Der Harn wurde mit Essigsäure schwach angesäuert, mit Bleizucker ausgefällt, der Niederschlag mit kaltem und warmem Wasser gewaschen, darauf mit konzentrierter Sodalösung zerrieben, die dunkelbraune Lösung mit Essigsäure angesäuert und zur Entfernung etwa vorhandener Protokatechusäure, deren Auftreten beim Schmelzen des Produktes mit Kaliumhydrat für die Huminsubstanzen bezeichnend ist, mit Äther ausgeschüttelt. Die Lösung wurde mit Ammoniak

[1]) F. Hoppe-Seyler, Berichte d. chem. Gesellsch. 8. 602. 1885. — v. Udránszky, Zeitschr. f. physiol. Ch. 13. 254. 1889.

[2]) H. Rosin, Virchows Archiv 123. 538 u. 563. 1881.

[3]) L. v. Udránszky, Zeitschr. f. physiol. Ch. 12. 51. 1888.

Digitized by Google

wieder alkalisch gemacht und mit Chlorcalcium bei möglichstem Luftabschluss gefällt. Der voluminöse Niederschlag wurde mit ausgekochtem Wasser, mit Alkohol und mit Äther gewaschen und über Schwefelsäure getrocknet.

Der Niederschlag enthielt etwas Eisen und viel Kalk, wie die aus normalem Harn durch Säure darstellbare Huminsubstanz Stickstoff, unterschied sich von dieser aber durch einen viel geringeren Kohlenstoff- und Stickstoffgehalt; er bestand aus 22,6% C, 2,3 H, 3,2 N, 54,2 O und 17,7 Ca (vgl. S. 1310). Die Substanz bildete ein feines braunes Pulver, das sich in kaltem Wasser, in Alkohol, Äther, Ammoniak nicht löste, sehr wenig in warmem Wasser, leicht in konzentrierten Säuren, namentlich in Salzsäure. Aus den Lösungen in konzentrierten Säuren schieden sich nach einiger Zeit schwarze Flocken aus, die sich in Natronlauge lösten und aus der Lösung durch Schwefelsäure wieder gefällt wurden. Beim Schmelzen mit Kaliumhydrat entstanden Ammoniak in geringer Menge, Oxalsäure, Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure und höhere Fettsäuren, Protocatechusäure, Brenzcatechin und ein der Hymatomelansäure entsprechender Körper von annähernd derselben Zusammensetzung wie bei anderen Huminkörpern (vgl. S. 1283).

Das Auftreten von Huminsubstanz im Pferdeharn mag mit der Nahrung des Tieres zusammenhängen. Ob sich Huminkörper auch in anderen, vor allem dem Menschenharn finden, ist zwar möglich, aber nicht untersucht.

g) Die Karbolharne.

Die Harne, welche namentlich nach der äusseren Anwendung von Phenol gelassen werden, besitzen unmittelbar nach der Entleerung entweder die normale Harnfarbe, oder sie sind grünlichbraun. Beiderlei Harne dunkeln dann beim Stehen an der Luft von oben herein, der normal gefärbte wird grünlichbraun, und darauf, wie auch der mit dieser Färbung entleerte, schwarzbraun. Ebenso oder ganz ähnlich verhalten sich auch Harne, welche nach der Einverleibung anderer aromatischer Substanzen entleert werden, so Salol, Hydrochinon, Brenzcatechin, Anilin, Paramidophenol, Salicylsäure, oder welche schon von Haus aus dergleichen Substanzen enthalten, wie der brenzcatechinhaltige Pferdeharn.

Die Ursache der eigentümlichen Färbung des Phenolharns ist von Baumann und Preusse[1]) in der Gegenwart wahrscheinlich mehrerer Oxydationsprodukte des Hydrochinons nachgewiesen worden.

Solchem, mit grünlichbrauner Färbung entleertem saurem Harn lässt sich durch Schütteln mit Äther eine Substanz entziehen, welche sich in Wasser mit bräunlicher Farbe löst und auf Zusatz von Ammoniak schwarzbraun wird, aber Silberlösung nicht reduziert und bei der Oxydation kein Chinon gibt, also nicht aus Brenzcatechin oder Hydrochinon besteht.

Lässt man Harn, welcher Hydrochinonschwefelsäure enthält, in alkalische Gärung geraten, so wird Hydrochinon frei und oxydiert sich in der alkalischen Flüssigkeit unter Bildung brauner Substanzen an der Luft; der Harn wird dunkler; normaler, mit Hydrochinon versetzter Harn verhält sich ebenso. Ohne Zweifel erleidet auch das Brenzcatechin, welches in Karbolharnen gleichfalls nachgewiesen wurde, dieselbe Veränderung, und auf einen analogen Vorgang dürfte sich die

[1]) E. Baumann und C. Preusse, Du Bois' Archiv 1879. 245; Baumann, Pflügers Archiv 13. 291.

Digitized by Google

Färbung und Farbenveränderung von Harn, der nach Zufuhr anderer aromatischer Substanzen entleert wurde, zurückführen lassen.

Das Endprodukt gehört aber den Huminsubstanzen an. F. Hoppe-Seyler hat die Bildung solcher aus Protocatechusäure und Pyrogallol ausserhalb des Organismus dargetan und v. Udránszky[1]) Huminsubstanz in dergleichen Harn nachgewiesen.

Der Harn eines äusserlich mit Phenol behandelten Hundes wurde filtriert, mit Ammoniak schwach alkalisch gemacht, mit Chlorcalcium gefällt und der Niederschlag nacheinander mit kaltem und warmem Wasser, mit Alkohol und mit Äther gewaschen. Bei anhaltendem Schütteln des Niederschlages mit kalt gesättigter Ammoniumcarbonatlösung wurde fast aller Farbstoff von dieser aufgenommen. Sie wurde bei 60° eingedampft, mit verdünnter Schwefelsäure angesäuert, die sich ausscheidenden Flocken, wie vorher der Niederschlag, gewaschen, in Natronlauge gelöst, die Lösung mit Schwefelsäure gefällt und der Niederschlag nach dem Waschen über Schwefelsäure getrocknet.

Die so erhaltene Substanz stellte schwarze Plättchen dar und lieferte beim Schmelzen mit Kali kein Ammoniak, aber, wie Huminsubstanz (S. 1283) Oxalsäure, flüchtige Fettsäuren, Brenzcatechin, Protocatechusäure und einen braunen Schmelzrückstand mit den Eigenschaften einer Säure.

Aus Harn von Hunden, denen Brenzcatechin und Hydrochinon innerlich verabreicht worden war, sowie auch aus normalem nach Zusatz von Hydrochinon dunkel gewordenen Harn konnte gleichfalls stickstofffreie Huminsubstanz dargestellt werden.

Ähnliche dunkle Farbstoffe sind auch bei anderer Gelegenheit wahrgenommen worden. Der Harn eines Kranken, welcher Resorcin erhalten hatte, dunkelte nach Stokvis[2]) an der Luft und schied bei beginnender alkalischer Gärung einen dunkelblauen, lackmoidartigen Farbstoff ab.

Der Farbstoff sublimierte nicht, war völlig unlöslich in Äther, Chloroform, Amylalkohol, Petroläther, absolutem Alkohol. Er löste sich in konzentrierter Essigsäure, namentlich Eisessig, mit roter Farbe, fiel bei genauer Neutralisation in vollkommen blauen Flocken wieder aus und löste sich in überschüssigem Alkali mit schön blauer Farbe. Die alkalische Lösung zeigte im Spektrum einen Absorptionsstreifen im Rot gerade vor D, wie eine Lackmuslösung.

Selbst eine verdünnte wässerige Resorcinlösung schied nach Zusatz von wenig Harnsäure und Ammoniak in einiger Zeit einen lackmusähnlichen Farbstoff ab. — Nach Kimmijser[3]) verhält sich der nach Resorcin entleerte Harn auf Zusatz von Zinnchlorür oder Chlormagnesium und Ammoniak ebenso.

Nach dem Gebrauch von Thymol geht nach Blum[4]) beim Nachweis neben Thymolschwefelsäure, Thymolhydrochinonschwefelsäure und Thymolglycuronsäure in den Harn das Chromogen eines eigenartigen Farbstoffes über, der auf Zusatz von Salzsäure auftritt.

Auch nach Lysolvergiftung kommen dunkel gefärbte Harne zur Beobachtung. Lysol ist eine unter Anwendung von Wärme bewirkte Auflösung von 1 Teil Steinkohlenteerkresol vom Schmelzpunkt 182 bis 210° in 1 Teil neutraler Leinölseife. Es ist nicht ausgeschlossen, dass

[1]) F. Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Ch. **13**. 99. — v. Udránszky, Zeitschr. f. physiol. Ch. **12**. 60.

[2]) B. J. Stokvis, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1889. **2**. 409; Jahresber. f. Tierch. 1869. 462.

[3]) Kimmijser, Nederl. Tijdschr. 1883. 725.

[4]) F. Blum, Deutsche med. Wochenschr. 1891. 186; Zeitschr. f. physiol. Ch. **16**. 514. 1892.

Digitized by Google

Phenol (Schmelzpunkt 182°) in diesem Kresolgemisch vorhanden ist. Falls reines Trikresol zur Kresolseifenlösung verwandt wird, so geht das Orthokresol in Hydrotoluchinon über, welches Schwarzfärbung des Harns bewirkt (Baumann). Es gibt im Handel Kresolseifenlösungen, die orthokresolfrei sind. Hier ist eine Schwarzfärbung des Harns nicht zu erwarten. Ein sicherer Schluss, ob Lysol- oder Karbolvergiftung vorliegt, lässt sich also aus dem Harnbefund nicht machen (Matter)[1].

II. Melanin und Melanogen.

Syn. Phymatorhusin.

A. Vorkommen. Kranke mit melanotischen Neubildungen entleeren entweder sogleich einen dunklen oder zeitweilig einen Harn, welcher erst beim Stehen an der Luft oder durch Oxydationsmittel, wie Salpetersäure (Bolze), Chromsäure (Eiselt), Bromwasser (Zeller), Eisenchlorid (v. Jaksch), dunkelbraun bis schwarz wird. — Ob die bei Ochronose (Schwarzfärbung der Knorpel) auftretenden dunkeln Harnfarbstoffe mit Melanin in Zusammenhang stehen, erscheint fraglich (s. bei Alkaptonurie). L. Langstein fand bei Untersuchung eines Falles keine Anhaltspunkte für Alkaptonurie. Er hielt den Farbstoff für Melanin. — Zdarek[2]) fällte aus dem Harn bei Ochronose einen schwarzen Körper C 52,59, H 4,83, N 7,29, O 34,66 %.

Fälle, in denen der frische Harn schon das schwarze Pigment enthielt, sind sehr selten; meist erfährt das Pigment, welches auf der Blutbahn aus den Geschwülsten in den Harn gelangt, auf diesem Wege eine Reduktion zu Melanogen (Wadsack)[3]).

Miura fand zweimal bei Kaninchen, denen Pferdemilzmelanin in die Bauchhöhle injiziert worden war, auffallend dunkle Harne, die mit chromsaurem Kali, sowie mit HNO_3 deutlich dunkler wurden. — Senator konnte dagegen bei Injektion von aus menschlichem Harn gewonnenem Melanin in die Bauchhöhle weder Melanogen noch Melanin im Harn finden. Wadsack[4]) hatte am gesunden Kaninchen ebenfalls negativen Befund. In einem zweiten Fall von Melanurie, in welchem der Harn schon frisch dunkelbraun war, trat dagegen bei durch Uran

[1]) O. Matter, Hofmeisters Beiträge **10**. 251. 1907. — E. Baumann, Zeitschr. f. physiol. Ch. **5**. 81. 1800.

[2]) Bolze, Prager Vierteljahrsschr. **66**. 140. 1860. — Eiselt, Ebenda **70**. 107. 1861 und **76**. 16. 1882. — Zeller, Archiv f. klin. Chir. **29**. 245. 1883. — v. Jaksch, Zeitschr. f. physiol. Ch. **13**. 385. 1889. — L. Langstein, Berliner klin. Wochenschr. 597. 1906. — E. Zdarek, Zeitschr. f. Heilk. u. Pathol. **23**. 379. 1902.

[3]) E. Wadsack, Char.-Annalen **30**. 128. 1906.

[4]) Miura, Virchows Archiv **106**. 1887. — Senator, Char.-Annalen **15**. 1891. — E. Wadsack, Ebenda **30**. 131. 1906.

Digitized by Google

nephritisch gemachten Kaninchen nach Darreichung von Melaninharn per os schon nach 24 Stunden Melanin im Kaninchenharn auf.

B. Eigenschaften. Der Farbstoff ist eingehend von Mörner, das Chromogen zum Teil in Gemeinschaft mit Ganghofner von Pribram[1]) untersucht worden.

1. Der Farbstoff. a) In dem Harn, aus welchem Mörner den Farbstoff darstellte, war niemals Chromogen nachweisbar. Er war stark gefärbt, wie Fieberharn. Ein Teil des Farbstoffes wurde aus dem Harn durch Barytwasser, ein anderer aus dem alkalischen Filtrat durch Bleizucker gefällt. Der im Barytniederschlag enthaltene Farbstoff darf als der reinere betrachtet werden.

Der nach dem Waschen hellbraungelbe Barytniederschlag lieferte bei der Behandlung mit konzentrierter Sodalösung eine fast braunschwarze Lösung, aus welcher durch Übersättigen mit Schwefelsäure beinahe aller Farbstoff niedergeschlagen wurde. Der Niederschlag wurde in Natronlauge gelöst und die Lösung mit überschüssiger Essigsäure versetzt, wobei der grösste Teil des Farbstoffes fiel, ein Rest gelöst oder in der Flüssigkeit suspendiert blieb. Nach nochmaligem Lösen des Niederschlages in Natronlauge und Fällen mit Essigsäure wurde der Farbstoff, zur Entfernung etwa beigemengter Harnsäure nur in so viel Lauge gelöst, dass Barytwasser keinen Niederschlag gab und die Lösung mit Bariumhydrat 24 Stunden stehen gelassen; das Filtrat wurde mit überschüssiger Essigsäure gefällt, der Niederschlag erst mit Wasser säurefrei gewaschen, dann nacheinander in Alkohol und in Äther aufgeschwemmt und im Wasserbad getrocknet. — Der in der essigsauren Lösung befindliche Rest konnte durch Bariumhydrat abgeschieden werden. In beiden Portionen wurde der Farbstoff in einen in Essigsäure von 50—75% löslichen und einen darin unlöslichen Anteil getrennt. — Aus dem Bleiniederschlag konnten in ähnlicher Weise ebenfalls zwei Farbstoffe dargestellt werden, von denen der eine in starker Essigsäure löslich war, der andere nicht. Der in Essigsäure unlösliche Teil verhielt sich nach dem Lösen in Natronlauge optisch nicht wie Urobilin, ebensowenig in ammoniakalischer zinkhaltiger Lösung.

Der in Essigsäure (von 50—75%) unlösliche Anteil des Barytniederschlages war trocken braunschwarz, amorph, schmolz bei 120° nicht. Er löste sich nicht in Wasser, Äther, Amylalkohol und verdünnten Säuren. Schwefelsäurehaltiger Alkohol löste beim Kochen wenig. Von konzentrierter Schwefelsäure wurde er in der Wärme teilweise mit brauner Farbe gelöst und durch Wasser wieder aus der Lösung gefällt. Konzentrierte Essigsäure löste ihn selbst bei anhaltendem Kochen nicht, auch nicht bei Gegenwart von Zinn. Sehr leicht löslich war der Farbstoff dagegen in Natronlauge, Ammoniak, kohlensaurem Natron, einfach saurem Natronphosphat. Die Lösung in Natronlauge war mit abnehmender Konzentration dunkelrotbraun, gelbbraun, gelb. Aus der Lösung in verdünnter Natronlauge wurde er durch Bariumhydrat, Chlorbarium und schwefelsaure Magnesia gefällt, aus stärkerer (1—2%iger) Lauge erst durch viel Barytwasser, aus der Lösung in Natronlauge leicht und vollständig durch essigsaures Blei. Auch aus der Lösung in verdünntem Ammoniak wurde er leicht durch Bariumhydrat, schwefelsaure Magnesia, Bleiacetat, aus der Lösung in Natronphosphat vollständig durch Chlorbarium gefällt. Die alkalischen Lösungen gaben mit Säure Niederschläge; die Lösung in Natronphosphat konnte fast bis zum Verschwinden der alkalischen Reaktion mit Salzsäure versetzt werden, ohne dass ein Niederschlag entstand, ein Überschuss von Salzsäure fällte aber. — Nach zweimonatlichem Aufbewahren des Farbstoffes in trockner Form gab seine Lösung in kohlensaurem

[1]) K. A. H. Mörner, Zeitschr. f. physiol. Ch. **11**. 66. 1887. — A. Přibram, Prager Vierteljahrsschr. 88. 16. 1865; — Přibram und Ganghofner, Ebenda **130**. 77. 1876.

Digitized by Google

Natron mit Essigsäure keinen Niederschlag mehr, wohl aber wurde die mit Essigsäure übersättigte Lösung gefällt durch essigsaures Natron, Chlornatrium, Bariumhydrat, und der so erhaltene Niederschlag löste sich nicht wieder in Essigsäure. Durch Salzsäure konnte die Lösung in Soda gefällt werden. — Salpetersäure von 25% löste den Farbstoff leicht mit gelber Farbe; durch Ammoniak wurde die Färbung stärker. Nach der Digestion mit 10%iger Salzsäure war der wieder gefällte Farbstoff nicht mehr braunschwarz, sondern braungelb und lockerer, und enthielt bedeutend weniger Eisen als vorher. Beim Erwärmen des Farbstoffes mit Kalilauge im Wasserbad bildete sich kein Schwefelkalium.

Keiner der Farbstoffe zeigte in Lösung ein Absorptionsband, alle absorbierten das Licht nach den ausgeführten photometrischen Messungen von Rot gegen das violette Ende allmählich stärker, die alkalische Lösung des in Essigsäure unlöslichen Anteiles des Barytniederschlages 5mal so stark als eine Hämoglobinlösung von gleicher Konzentration. Die Lösungen der in Essigsäure löslichen Präparate absorbierten unter sich das Licht in gleicher Weise, ebenso die der in Essigsäure unlöslichen Farbstoffanteile, aber beiderlei Präparate stimmten in dieser Hinsicht nicht überein.

Der in Essigsäure unlösliche Farbstoff des Barytniederschlags aus dem Harn besass dieselbe Lichtabsorption und genau dieselbe Zusammensetzung (aschefrei 55,76% C, 5,95 H, 12,27 N, 9,01 S, 0,20 Fe) wie der entsprechende Farbstoff aus der Neubildung (55,72% C, 6,00 H, 12,30 N, 7,97 S, 0,07 Fe). Der Unterschied im Eisengehalt rührt daher, dass der Geschwulstfarbstoff mit 10%iger Salzsäure gekocht worden war; auch der Eisengehalt des Harnfarbstoffes sank bei gleicher Behandlung auf 0,028%. Der Farbstoff besass, auch in der Zusammensetzung eine sehr grosse Ähnlichkeit mit dem Phymatorhusin (φύμα Geschwulst, ῥούσιος rotbraun) genannten, von Berdez und Nencki aus melanotischen Geschwülsten des Menschen hergestellten Farbstoff. — Primavera stellte aus Sarkomharn ein Melanin (C 54,01, H 6,31, N 10,20, S 9,11, O 20,22%) dar. Fe war nur in Spuren vorhanden. — Hensen und Nölke [1]) geben als Zusammensetzung des (aschefreien) Harnmelanin bei allgemeiner Melanose an: C 59,42, H 6,16, N 11,16, S 7,57%. Fe liess sich qualitativ in der Asche in Spuren nachweisen.

b) Brom färbt den melanotischen Harn nicht bloss dunkel, sondern gibt auch einen braunschwarzen Niederschlag von Brommelanin. Zeller fand in demselben 16,6% Brom. Er löste sich nur wenig in heissem Alkohol und seine Asche enthielt nur eine Spur Eisen.

c) Thormählen fand in einem dunkelbraunen Harn einer an Leber- und Milztumoren leidenden Patientin, dass auf Zusatz von Nitroprussidnatrium und Lauge (Legalsche Probe) eine rote Farbe auftrat, die auf Zusatz von Essigsäure prachtvoll blau wurde. Beim Erwärmen verschwand die Farbe, Lauge stellte die Farbe wieder her. Die Reaktion ist tatsächlich bei Melanurie häufiger positiv (Stokvis, Wadsack, Helmann), tritt aber keineswegs in allen Melanogenharnen auf (van Leersum [2]), Helmann). Sie kommt weder dem Melanogen, noch dem Melanin zu (Helmann). — Indollösungen verhalten sich bei der Legalschen Probe ähnlich.

d) Hoppe-Seyler [3]) erhielt beim Schmelzen eines mit neutralem essigsauren Blei aus Harn abgeschiedenen Melanins mit Kaliumhydrat Ammoniak, Indol, Huminsäure und Protocatechusäure, aber kein Brenzcatechin.

---

[1]) J. Berdez u. H. Nencki, Arch. f. experim. Path. **20**. 346. 1886. — Primavera, Giorn. intern. Scienze Med. **29**. 1908; Jahresber. f. Tierch. **38**. 817. 1908. — Hensen u. Nölke, Deutsch. Arch. f. klin. Medizin. 62. 347. 1899.

[2]) J. Thormählen, Virchows Archiv **108**. 317. 1887. — E. Wadsack, l. c. — D. Helmann, Archiv intern. de pharm. et de thérap. **12**. 271. 1903. — B. J. Stokvis, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. II. 139. 1899; Jahresber. f. Tierch. **29**. 843. 1899. — van Leersum, Feestbundel Dr. v. Talma 1901. 95; Jahresber. f. Tierch. **31**. 856. 1901.

[3]) F. Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Ch. **15**. 186. 1891.

Digitized by Google

e) Pollak fand bei seiner Untersuchung des Chromogens und Hofmeister [1]) bestätigte, dass die in melanotischem Harn durch Oxydation hervorgerufene Dunkelfärbung durch Reduktionsmittel wieder zum Verschwinden gebracht werden kann.

2. Das Chromogen. a) Das Chromogen liess sich in der Untersuchung von Přibram durch alkalische Erden nur unvollständig aus dem Harn abscheiden, völlig dagegen durch essigsaures Blei. Der weisse Niederschlag gab nach der Suspension in Wasser dieselben Pigmentreaktionen, wie der Harn selbst und lieferte nach dem Zersetzen mit Schwefelwasserstoff ein völlig farbloses Filtrat, welches sich beim Verdunsten allmählich dunkel färbte und einen braunschwarzen amorphen Niederschlag hinterliess. Nach dem Waschen mit Alkohol und mit Äther erwies sich derselbe als unlöslich in Wasser, kaltem Alkohol, Äther, verdünnten Mineralsäuren und Essigsäure. Beim Kochen mit dem Farbstoff färbte sich der Alkohol braun und die Lösung lieferte beim Verdunsten einen ähnlichen Rückstand, wie die wässerige Lösung des Chromogens. Bei der trocknen Destillation entwickelte der Farbstoff ammoniakalische Produkte und hinterliess wenig eisenhaltige Asche. Beim Schmelzen desselben mit Kali bildete sich eine flüchtige Fettsäure, nach dem Geruch Buttersäure. — Der bei einer anderen Darstellung gewonnene, dem beschriebenen ähnliche Farbstoff löste sich auch nicht in kalter Salzsäure oder Salpetersäure; wurde er mit Salpetersäure erwärmt, so entwickelte die Säure braune Dämpfe und färbte sich gelbgrünlich, ohne dass sich der Farbstoff selbst sichtlich veränderte. Durch Kochen mit Kalilauge und durch Chlorwasser wurde der Farbstoff entfärbt und zum Teil gelöst. Neben diesem Farbstoff wurde (aus dem Kalkniederschlag) noch ein zweiter brauner Farbstoff gewonnen, welcher sich in Alkohol, Äther, Säuren und Alkalien mit brauner Farbe löste.

b) In der Untersuchung von Brandl und Pfeiffer [2]) blieb steriler melanotischer Harn unter Luftabschluss hellgelb. Das Melanogen liess sich zum grossen Teil mit neutralem Bleiazetat ausfällen. Nach dem Zerlegen desselben mit Schwefelwasserstoff wurde ein hellgelbes Filtrat erhalten, das aber, selbst im Dunkeln, schnell braun und schliesslich schwarz wurde. Bevor das Filtrat dunkel wurde, zeigte es, in saurer Lösung, einen Absorptionsstreifen in der Lage des Urobilinbandes, der auf Zusatz von Ammoniak verschwand; Fluorescenz war auf Zusatz von ammoniakalischer Zinklösung nicht wahrnehmbar. Bleiacetat und Ammoniak fällte den in Lösung gebliebenen Rest des Chromogens; die gefällte Substanz war in Äther löslich und färbte sich durch Oxydationsmittel dunkel.

c) Nach O. Adler [3]) ist für den Melanogenharn folgende Reaktion charakteristisch: 100 ccm Harn werden mit einem Tropfen Essigsäure angesäuert und dann mit einer Lösung von neutralem Bleiazetat völlig ausgefällt. Der Niederschlag wird abgesaugt und mit verdünnter Bleiazetatlösung gewaschen. Der Niederschlag wird dann in Wasser suspendiert, mit Schwefelwasserstoff zerlegt und abfiltriert. Ca. 2 ccm des Filtrates werden, nachdem der SH_2 durch einen Luftstrom vertrieben ist, mit 1 Tropfen verdünnter Eisenchloridlösung, 3 ccm Essigsäure und 1—2 ccm konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Es entsteht eine Violettfärbung und im Spektroskop zeigt sich ein scharfes Band nahe der D-linie. Tryptophan und Indol geben ähnliche Farben. Das Band des Melanogenharnes liegt bei 581 $\mu\mu$, bei Tryptophan bei 555 $\mu\mu$, bei Indol bei 468,5 $\mu\mu$. Die Thormählensche Reaktion soll weniger sicher sein.

C. Nachweis. Der Nachweis des Melanins geschieht durch die S. 1313 genannten Oxydationsmittel. Senator [4]) beobachtete in einem

[1]) S. Pollak, Wiener med. Wochenschr. 1889. 1473 u. 1516. — F. Hofmeister, Zeitschr. f. analyt. Ch. **30**. 262.

[2]) J. Brandl und L. Pfeiffer, Zeitschr. f. Biol. **26**. 372. 1890.

[3]) O. Adler, Zeitschr. f. Krebsforsch. **11**. 1. 1912.

[4]) Senator, Char.-Annalen **15**; Jahresber. f. Tierch. **21**. 421. 1891.

Digitized by Google

Fall als Ursache der Dunkelfärbung einen reichlichen Gehalt an Indican. Vermeiden lässt sich dieser Zwischenfall nicht, aber im Zweifelsfall müsste der gebildete Farbstoff auf Indigblau untersucht werden. Auch ein starker Gehalt des Harns an Urobilinogen kann zu Irrungen führen.

III. Hämatin.

$C_{34}H_{34}N_4FeO_5$.

A. Vorkommen. Das Hämatin scheint nicht gerade selten im Harn vorzukommen; Huppert hat es spektroskopisch in einem Harn bei Schwefelsäurevergiftung nachgewiesen. Nach Lewin und Posner[1]) bildet sich Hämatin beim Erwärmen bluthaltigen Harns auf ungefähr 48° (infolge der Zersetzung des Hämoglobins durch den sauren Harn; vgl. S. 1221).

B. Eigenschaften. 1. Die Zusammensetzung des Hämatins ist von der Darstellungsweise abhängig. Die Formel desselben ist aller Wahrscheinlichkeit nach $C_{34}H_{34}N_4O_5Fe$. Es enthält also auf 1 At. Fe 4 At. N.

2. Das Hämatin wird sauerstoffhaltig und sauerstofffrei (Hämochromogen) erhalten, je nachdem man vom Oxyhämoglobin oder vom Hämoglobin ausgeht. Das gewöhnliche ist das sauerstoffhaltige. Es ist bis jetzt nicht in Krystallform erhalten worden. In reinem Zustand ist dieses in dichten Massen blauschwarz, fein verteilt schön dunkelschwarzbraun. Es löst sich nicht in Wasser, Alkohol, Äther, Chloroform, nicht in wässerigen Säuren, wohl aber in Eisessig, sowie in säurehaltigem Alkohol oder Äther, leicht in Alkalihydraten und -carbonaten. Die Farbe der Hämatinlösungen ist bei saurer Reaktion schokoladebraun, bei alkalischer Reaktion in dicker Schicht durchscheinend granatrot, in dünner olivengrün.

3. Das sauerstoffhaltige Hämatin zeigt in saurer Lösung ein dem des Methämoglobins in neutraler Lösung sehr ähnliches Spektrum (Tafel I, Spektrum 3a—c), in welchem namentlich der Streifen in Rot stark hervortritt. Dasselbe Spektrum weisen auch die natürlichen Hämatinlösungen (Harn etc.) auf. Der Streifen in Rot hat keine feste Lage, in stärker salzsauren Lösungen liegt er näher an C als in schwächer salzsauren, in der sauren ätherischen Lösung näher an C, als in der sauren alkoholischen Lösung (Sorby, Jäderholm). In stark saurer alkoholischer Lösung kann der Streifen nach Nencki und Sieber sogar zwischen B und C liegen. — Der Streifen ist von dem des neutralen Methaemoglobins dadurch unterschieden, dass er nicht wie bei diesem etwa in der Mitte zwischen C und D liegt und von beiden getrennt, sondern der C-Linie benachbart liegt. Ferner geht der Streifen des Methämoglobins durch Zusatz von Alkali in ein zweibandiges Spektrum über, während das des alkalischen Hämatins einbandig ist. — Das Spektrum des Hämatins in ammoniakalischer Lösung besitzt nur einen, rechts an D grenzenden oder, bei konzentrierter Lösung, D überragenden Streifen (Spektrum b). Die Lösung des Hämatins in natriumhydrathaltigem Alkohol oder im Natriumcarbonat besitzt dagegen nach Bertin-Sans und Moitessier[2]) einen Streifen in Rot, dessen Mitte auf λ 618 (C 49 D) liegt.

4. Aus alkalischen Lösungen wird es durch Calcium- oder Bariumsalze in braunen Flocken gefällt (Cazeneuve), aus Calciumphosphat enthaltenden Lösungen

[1]) L. Lewin und C Posner, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1887. 355.

[2]) Jäderholm, Zeitschr. f. Biol. 13. 200. 1877. — Nencki und Sieber a. a. O. 412. — H. Bertin-Sans und J. Moitessier, Bull. de la Soc. chim. [3] 9. 380. 1890.

Digitized by Google

auf Zusatz von Alkalihydrat zugleich mit dem Phosphat in blutroten Flocken (Heller). Chlorzink und Ammoniak schlagen gleichfalls das Hämatin nieder (Cazeneuve [1]). Eine Verbindung des Hämatins mit Salzsäure, das Hämin, $C_{34}H_{33}N_4FeClO_4$, krystallisiert in braunen, rhombischen Täfelchen beim Erwärmen von Hämoglobin mit Eisessig und einem Chlorid; Alkalihydrat oder Carbonat entziehen der Verbindung die Säure. Es löst sich in Chloroform nicht, im Gegensatz zu braunen Zersetzungsprodukten des Hämatins.

5. Reduktionsmittel entziehen dem Sauerstoff-Hämatin Sauerstoff und führen es in reduziertes Hämatin (Stokes) oder Hämochromogen (Hoppe-Seyler) über. Nimmt man die Reduktion durch Kaliumsulfid oder Kaliumhydrosulfid, Schwefelammon, weinsaures Eisenoxydul, Natriumhydrosulfit, Hydrazinhydrat vor, so erscheint nach Bertin-Sans und Moitessier ein Absorptionsstreifen auf D, und erst wenn man die Lösung mit Ammoniak oder einem Amin (Äthylamin, Anilin) oder einer Amidosäure (Glycocoll, Taurin) oder einer Spur Eiweiss versetzt, tritt das Spektrum des Hämochromogens auf. Harnstoff ist dagegen ohne Einfluss. Die alkalische Hämochromogenlösung ist schön kirschrot und bei Luftabschluss haltbar. Das Spektrum (Tafel I. 3c) ist ausserordentlich charakteristisch und zum Nachweis von Blutfarbstoff noch in Verdünnungen brauchbar, in denen die direkt sichtbaren Streifen von Oxyhämoglobin und von Hämatin schon sehr schwach sind. Das Spektrum des Hämochromogens hat einen sehr scharfen, dunklen Absorptionsstreifen α fast genau in der Mitte zwischen D und E, das Maximum der Lichtabsorption liegt bei λ 556 $\mu\mu$, und einen blasseren β, der kurz vor E beginnt und sich etwas über β hinaus erstreckt, das Maximum der Lichtabsorption liegt bei λ 526 und λ 530 $\mu\mu$. Der Schatten γ auf D in der Abbildung rührt von einer Nebenwirkung des zur Reduktion verwendeten Schwefelammons her. Beim Ansäuern der Lösung verschwinden die Absorptionsstreifen. Das von Bertin-Sans und Moitessier gefundene Zwischenprodukt zwischen Hämatin und Hämochromogen nennen sie gleichfalls reduziertes Hämatin.

6. Unter der Einwirkung von Mineralsäuren (Schwefelsäure, Bromwasserstoff) geht das Sauerstoff-Hämatin leicht in Hämatoporphyrin über; das Hämochromogen erleidet diese Verwandlung nach Hoppe-Seyler schon durch schwache Säuren.

7. Bei der Behandlung einer sauren alkoholischen Hämatinlösung mit Wasserstoffsuperoxyd erhielt Mac Munn [2]) eine dem Urobilin oder Choletelin ähnliche Substanz. Ihre alkoholische Lösung zeigte ein Band bei F, welches auf Zusatz von Ammoniak verschwand, auf nachträglichen Zusatz von Chlorzink trat grüne Fluorescenz auf und das Band war nach Rot hin verschoben; dasselbe weiter nach Rot zu gelegene Band trat auch auf bei Zusatz von Chlorzink allein und von Natriumhydrat. Auch bei Reduktion mit Zinn und Salzsäure entstehen urobilinartige Farbstoffe.

8. Durch Kochen mit konzentrierter Kalilauge wird das Hämatin nicht verändert; in der Kalischmelze entweicht NH_3, beim trocknen Erhitzen entsteht Pyrrol. Oxydation mit Chromsäure und Eisessig liefert Hämatinsäure. Über diese sowie über die Konstitution des Hämatins siehe bei Hämatoporphyrin.

C. Nachweis. 1. Das Hämatin lässt sich am sichersten und einfachsten durch die Spektraluntersuchung von anderen farbigen Substanzen unterscheiden. Man darf sich aber nicht damit begnügen, im Harn direkt einen starken Absorptionsstreifen im Rot nachgewiesen zu haben, weil dieser auch dem Methämoglobin zukommt, sondern muss die Flüssigkeit mit Ammoniak alkalisch machen und nach dem Filtrieren nochmals untersuchen. Bei Gegenwart von Hämatin ist das Spektrum 2 sichtbar, das auf Zusatz von Schwefelammon nach einiger Zeit in das Spektrum 3 übergeht.

[1]) Cazeneuve, Bull. de la Soc. chim. [2] **27.** 486; Sur l'hématine. Thèse Paris 1876. 63.

[2]) Mac Munn, Journ. of Physiol. **6.** 35; **10.** 98.

Digitized by Google

2. Man kann auch den Harn nach dem Ansäuern mit Essigsäure mit Äther ausschütteln; die bei Anwesenheit von Hämatin braune ätherische Lösung gibt das Spektrum (1) des Hämatins in saurer Lösung. Ammoniak fällt aus ihr zunächst braunes Hämatin, das sich darauf in der wässerigen Schicht löst (Spektrum 2) und sich reduzieren lässt.

IV. Hämatoporphyrin.

$C_{17}H_{19}N_2O_3$ (Zaleski), bezw. $C_{34}H_{38}N_4O_6$.

Syn.: Eisenfreies Hämatin, Preyers Hämatin, Saillets [1]) Urospektrin.

Das Hämatin wird bei der Einwirkung konzentrierter Schwefelsäure (Mulder), bei der Behandlung seiner Lösung in säurehaltigem Alkohol mit Zinn oder Zink in gelinder Wärme ohne Gasentwickelung (F. Hoppe-Seyler), sowie durch Erwärmen seiner Lösung in Eisessig mit Bromwasserstoff (Nencki und Sieber) in Hämatoporphyrin verwandelt. Hämochromogen (reduziertes Hämatin) geht bei der Einwirkung selbst schwacher Säuren leicht in Hämatoporphyrin über (F. Hoppe-Seyler). Das Verfahren von Nencki und Sieber[2]) scheint ein reines Präparat zu liefern. Bei der weiteren Behandlung mit reduzierenden Mitteln liefert es einen Körper, der sich spektroskopisch wie das Urobilin verhält.

A. Vorkommen. Nach den Untersuchungen von Garrod, von Saillet sowie von Keyzer kommt das Hämatoporphyrin in geringer Menge aber regelmässig im normalen Harn des Menschen und nach Stokvis auch der Kaninchen vor. Neubauer bestätigt das Vorkommen im normalen Kaninchenharn, Nakarai vermisst dasselbe dagegen bei Löwen und Tigern trotz blutreicher Nahrung. Reichlicher findet es sich gelegentlich bei den verschiedensten mit und ohne Fieber verlaufenden Krankheiten, ohne dass die Harne immer in der Farbe etwas Auffälliges darbieten. Das Hämatoporphyrin kann zum Teil als Chromogen vorhanden sein. Deshalb gestattet die Farbe des Harns nicht ohne weiteres einen Schluss auf die Menge des Hämatoporphyrin. Auf dem Gehalt an Chromogen beruht die bekannte Eigenschaft der Hämatoporphyrinharne nachzudunkeln. Sehr oft sind auch dunkel weinrote, hämatoporphyrinreiche Harne während und nach dem Gebrauch von Sulfonal, Trional, Tetronal gesehen und untersucht worden, so von Stokvis, Salkowski, Hammarsten und vielen anderen; doch sind auch so stark gefärbte Harne (Neusser, Sobernheim, Thornton[3]) u. a.) vorgekommen ohne den Gebrauch dieses oder

[1]) Saillet, Bull. de thérap. 1894. 400; Revue de méd. **16**. 542. 1896.

[2]) E. Hoppe-Seyler, mediz.-chem. Untersuch. 528. 1871. — H. Nencki u. N. Sieber, Monatsschr. f. Chem. **9**. 115. 1888; Arch. f. exper. Pathol. **24**. 130. 1888.

[3]) J. Keyzer, Diss. Freiburg i. B. 1897 (angefertigt bei Stokvis). — O. Neubauer, Archiv f. exper. Pathol. u. Pharm. **43**. 456. 1900. — Nakarai, Deutsches Archiv f. klin. Med. **58**. 165. 1897. — Archibald E. Garrod, Journ. of Physiol. **13**. 619. 1893; **17**. 350. 1894. — Saillet, a. a. O. — Stokvis, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1896. 177. — B. J. Stokvis, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1889. 2. 413. — Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Ch. **15**. 286. 1891. — Hammarsten, Skandin. Archiv **3**. 319. 1892. — E. Neusser, Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch. **84**. 3. Abt. 356. 1881. — Sobernheim, Deutsche med. Wochenschr. 24. 1892. — G. L. Thornton, Lancet **1904**. 888.

Digitized by Google

ähnlicher Mittel. Ferner ist starke Hämatoporphyrinurie ein fast konstantes Symptom bei Bleikranken (Stokvis, Binnendijk, Schulte, Deroide und Lecompt)[1]).

Das stärkere Auftreten von Hämatoporphyrin im Harn war bei verschiedenen Krankheiten schon mehrfach wahrscheinlich gemacht (Baumstark [1874], Neusser, Stokvis, Mc. Munn, Le Nobel, Copemann). Den Beweis dafür, dass es sich wirklich um Hämatoporphyrin handelte, erbrachte hauptsächlich auf Grund des spektroskopischen Verhaltens zuerst Salkowski in seinem Fall von Sulfonalvergiftung. In reinem, krystallisiertem Zustand wurde das Hämatoporphyrin bei Sulfonalvergiftung zuerst von Hammarsten dargestellt; später stellten Garrod, sowie Riva und Zoja[2]) ebenfalls Hämatoporphyrin aus Harn rein dar.

Manchmal enthalten nach Garrod[3]) die Uratsedimente Hämatoporphyrin, dann aber in einer Form, in welcher es das metallische Spektrum zeigt.

Mac Munn erhielt das Hämatoporphyrin nicht rein, sondern mit anderen Farbstoffen, namentlich Urobilin, gemengt, hielt aber diese Gemische für eigenartige Körper. Das an Urobilin reichere Hämatoporphyrin ist sein febriles, oder, wie er es später nannte, pathologisches Urobilin, das an Urobilin ärmere Gemisch sein Urohämatin, oder, nach späterer Bezeichnung Urohämatoporphyrin. Mit der Untersuchung der Farbstoffe von Mac Munn haben sich Garrod und Hopkins[4]) beschäftigt. Garrod, sowie Riva und Zoja stellten das Hämatoporphyrin aus Harn rein dar.

Neben dem Hämatoporphyrin kommt im Harn noch das Chromogen des Farbstoffs vor (B. 7.).

Sehr kleine Mengen Hämatoporphyrin hat Stokvis in sehr vielen Harnen, auch Gesunder, nach einem dem Garrods ähnlichen Verfahren aufgefunden. — Hopkins[5]) hat beobachtet, dass beim Sättigen des Harns mit Chlorammon mit der Harnsäure auch Hämatoporphyrin ausfällt; es lässt sich dem Niederschlag durch angesäuerten Alkohol oder durch wässerige Salzsäure in überraschend vielen Fällen, auch bei Verarbeitung normalen Harns, entziehen und spektroskopisch nachweisen. — Es ist, bei Verwendung genügend grosser Harnmengen, nicht schwer,

[1]) B. J. Stokvis, Zeitschr. f. klin. Med. **28**. 1. 1895. — Binnendijk, mitgeteilt bei Schulte. — Schulte, Deutsches Archiv f. klin. Med. **58**. 313. 1897. — Deroide et Lecompt, Compt. rend. Soc. biol. **50**. 396. 1898.

[2]) F. Baumstark, Ber. d. chem. Gesellsch. **7**. 1170. 1874. — E. Neusser, Sitzungsb. Wien. Akad. 1881. — B. J. Stokvis, l. c. — Mac Munn, Proceed. Roy. Soc. **31**. 26 u. 206; Jahresber. f. Tierch. 1881. 211; Brit. med. Journ. Oct. 1885; Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1884. 138; Journ. of Physiol. **6**. 36. 1885; **10**. 71. 1889. — E. Salkowski, l. c. — Garrod, Journ. of Physiol. **13**. 598. 1893; **15**. 108. 1894. — A. Riva und L. Zoja, Gaz. med. di Torino. anno XLIII n. 22. 1892. — L. Zoja, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1892. 706; Archivio italiano di clinica medica 1893; Archives italiennes de Biol. **19**. fasc. 3. 1893.

[3]) Garrod, Journ. of Physiol. **15**. 116. 1893; **17**. 441. 1895.

[4]) Mac Munn, Proc. a. a. O.; Journ. of Physiol. **6**. 35. 1885. — A. E. Garrod und F. G. Hopkins, Journ. of Physiol. **20**. 131. 1896.

[5]) Stokvis, Jahresber. f. Tierch. 1893. 593. — F. Gowland Hopkins, Guys Hosp. Reports **50**. 356. 1893; Journ. of Pathol. and Bacteriol. **1**. 453. 1893.

Digitized by Google

sich von der Richtigkeit der Angaben Garrods über das Vorkommen von Hämatoporphyrin im normalen Harn zu überzeugen.

Man kann, nach Huppert, fast mit Bestimmtheit darauf rechnen, im Fieberharn viel mehr Hämatoporphyrin anzutreffen, als im Harn Gesunder. Nach Garrod tritt es in reichlicher Menge auf bei enterischem Fieber, Addisonscher Krankheit, bei Morbus Basedowii und Phthisis, in mässiger Vermehrung bei Störungen der Lebertätigkeit und der Tätigkeit der blutbereitenden Organe überhaupt (Riva und Zoja), und zwar gewöhnlich bei Cirrhose und Carcinom der Leber, sehr konstant bei der Bleivergiftung (Stokvis), beim akuten Rheumatismus (Mac Munn) und bei Gicht. Neusser fand seinen Farbstoff bei fibrinöser Pleuritis, sowie bei Morbus Brightii, Anderson bei Hydroa aestiva, Nebelthau bei hereditärer Syphilis, Calvert und Garrod [1]) bei einem Magengeschwür mit Hämatemesis. Keine Vermehrung findet für gewöhnlich statt bei der perniziösen Anämie, jedoch beschreibt Taylor einen Fall, bei dem grössere Mengen von Hämatoporphyrin auftraten. Auch die Hämatoporphyrinurie nach dem Gebrauch von Sulfonal geht nicht mit einer gesteigerten Zerstörung der Blutkörperchen einher. Die von Stokvis ausgesprochene Vermutung, dass das Hämatoporphyrin im Darm aus dahin gelangtem Blut entstehe, und dass sich die nach dem Gebrauch von Sulfonal auftretende starke Hämatoporphyrinurie aus Blutungen in den Darm erkläre, hat sich nach Untersuchungen von Garrod und Hopkins, von Kast und Weiss, sowie von Stokvis [2]) selbst als nicht begründet erwiesen.

Auch der Gebrauch von Trional hat nach Schultze, Herting, Beyer u. a. [3]) eine so starke Ausscheidung von Hämatoporphyrin im Gefolge, wie der von Sulfonal, ebenso nach Herting der Gebrauch von Tetronal.

Quincke hat bei Sulfonalvergiftung einen Farbstoff beschrieben, der dem Harn eine ganz ähnliche Farbe verlieh, wie Hämatoporphyrin, sich aber durch sein spektrales Verhalten wesentlich vom Hämatoporphyrin unterschied. — Auch Kast und Weiss beobachteten bei Sulfonalvergiftung bei Kaninchen einen roten Farbstoff, der mit Hämatoporphyrin nicht identisch war. Hierher gehört wohl auch ein purpurfarbiges Harnpigment, das kongenital bei drei Familienmitgliedern auftrat (Schölberg [4])).

In Tierversuchen (Hund, Kaninchen) konnten Stokvis, Kast und Weiss, Neubauer durch Sulfonalvergiftung Hämatoporphyrin erzeugen, während das Bonnani [5]) nicht gelang.

Das Wesen der Hämatoporphyrinurie ist noch nicht genügend aufgeklärt (s. die Zusammenstellung von Schulz [6])).

Nach Parmentier [7]) wird die Hämatoporphyrinurie stets von Urobilinurie begleitet.

---

[1]) Garrod, Edinburgh med. Journ. August 1897. 113. — T. M. Call Anderson, Brit. Journ. of Dermatol. 1898. Jan.; Jahresber. f. Tierch. **28.** 680. 1898. — E. Nebelthau, Zeitschr. f. physiol. Ch. **27.** 324. 1898. — J. Calvert und A. Garrod, Clinical soc. Transcat. London 1901. 34; Jahresber. f. Tierch. **31.** 855. 1901.

[2]) Stokvis, Tijdschr. a. a. O. 409; Jahresber. f. Tierch. 1893. 593; Zeitschr. f. klin. Med. **28.** 1. — Garrod und F. G. Hopkins, Journ. of Pathol. and Bacteriol. Jan. 1896. 434. — A. Kast und Th. Weiss, Berliner klin. Wochenschr. 28. 1896. — Stokvis, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1896. 177. — A. E. Taylor, Zentralbl. f. inn. Med. 1897. 873.

[3]) Schultze, Deutsche med. Wochenschr. 7. 1894. 152. — Herting, Ebenda 15. 1894. — Beyer, Deutsche med. Wochenschr. 1896. Nr. 1.

[4]) H. Quincke, Berliner klin. Wochenschr. 1892. 889. — A. Kast und Th. Weiss, Ebenda 1896. 621. — H. A. Schölberg, Lancet 1902. I. 666.

[5]) A. Bonanni, Policlinico **15.** 84. 1907.

[6]) Fr. N. Schulz, Ergebn. d. Physiol. **2.** I. 161. 1903.

[7]) H. Parmentier, Thèse de Paris 1905.

Digitized by Google

Genaueres über die Mengenverhältnisse, in denen das Hämatoporphyrin unter verschiedenen Umständen auftritt, wird man erst erfahren, wenn systematische Untersuchungen hierüber nach einheitlicher Methode angestellt werden. Versuche zu quantitativer Bestimmung sind nur wenig unternommen worden. Garrod fand im Liter normalen Harn durch Wägen des in Alkohol löslichen Anteiles des Farbstoffes 0,7 mg, bei einem Herzfehler mit Leberzirrhose durch Wägen und kolorimetrische Bestimmung im Liter 10 mg, wobei zu berücksichtigen ist, dass bei der Darstellung des Farbstoffes ungefähr die Hälfte verloren geht. Saillet bestimmte spektrometrisch in der Tagesmenge normalen Harn 2—11 mg, nur $^1/_{10}$ soviel, als der normale Harn Urobilin enthält; Urobilin und Hämatoporphyrin steigen und fallen im normalen Harn miteinander. Aus 1 Liter Sulfonalharn fällte Salkowski[1]) nach seinem Verfahren 0,87 g Hämatoporphyrin (organische Substanz).

B. Eigenschaften. 1. Das von Nencki und Sieber mittels Bromwasserstoff aus Hämatin dargestellte Hämatoporphyrin, $C_{16}H_{18}N_2O_3$, wird aus seiner Lösung in schwacher Salzsäure beim Neutralisieren mit Natronlauge und nachträglichem Zusatz einiger Tropfen Essigsäure oder besser sogleich durch Zusatz von essigsaurem Natron in amorphen braunen Flocken gefällt. Diese lösen sich fast nicht in Wasser, in verdünnter Essigsäure, Benzol, Nitrobenzol, Äthylenbromid, nur wenig in Äther, Amylalkohol, Chloroform, Phenol, leicht aber in Alkohol, in den Alkalihydraten und -Carbonaten, sowie in verdünnten Mineralsäuren. Es löst sich auch leicht in Eisessig, diese Lösung scheidet aber nach Nencki und Rotschy[2]) langsam braunrote Krystalle von der Form des Hämatoidins ab, die sich nur spurenweise in Alkohol und in verdünnter Salzsäure, leicht dagegen in den Alkalien lösen. In saurer Lösung wird es durch Kochsalz, Magnesiumchlorid, Ammoniumsulfat, Bleiacetat gefällt.

Zaleski[3]) schreibt dem Hämatoporphyrin neuerdings die Formel $C_{34}H_{38}N_4O_6$ zu. Die Entstehung des Hämatoporphyrin aus Hämin drückt Zaleski durch folgende Gleichung aus:

$$C_{34}H_{33}N_4O_4FeCl + 2\,HBr + 2\,H_2O = C_{34}H_{38}N_4O_6 + FeBr_2 + HCl.$$

Durch Reduktion von Hämin mit Jodwasserstoff und Phosphoniumjodid entsteht nach Nencki und Zaleski das dem Hämatoporphyrin nahestehende Mesoporphyrin $C_{34}H_{38}N_4O_4$. Aus dem Chlorophyll lässt sich nach Schenk und Marchlewski ein dem Hämatoporphyrin sehr ähnliches, auch im spektralen Verhalten, Phylloporphyrin gewinnen.

Wird das Hämatoporphyrin bei 100⁰ getrocknet, so büsst es unter fortwährendem Gewichtsverlust an Löslichkeit in verdünnter Salzsäure und in Alkohol ein.

[1]) Garrod, a. a. O. **17.** 352. — Saillet, Revue de méd. **16.** 552; **17.** 127. — Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Ch. **15.** 299. 1891.
[2]) Nencki und Sieber, Archiv f. exper. Pathol. **24.** 432. 1888. — M. Nencki und A. Rotschy, Monatshefte f. Ch. **10.** 568. 1889.
[3]) J. Zaleski, Zeitschr. f. physiol. Ch. **37.** 54. 1902.

Digitized by Google

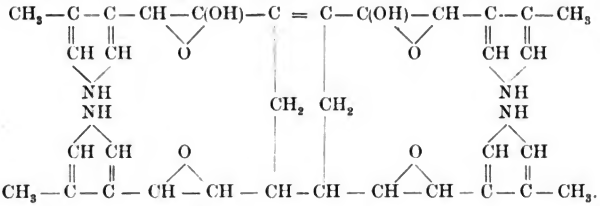
Das durch Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure auf Hämatin gewonnene Hämatoporphyrin besitzt die Zusammensetzung $C_{32}H_{34}N_4O_5$ und wird von Nencki und Sieber[1]) als das Anhydrid der oben beschriebenen Verbindung betrachtet. Es bildet braune, in Alkohol, in Äther und in verdünnten Säuren fast unlösliche, in den Alkalien aber leicht lösliche Flocken.

Auch das Hämatoporphyrin aus Harn scheidet sich nach Garrod[2]) aus seinen Lösungen in Chloroform, in Äthyl- und Amylalkohol beim (freiwilligen) Verdunsten immer amorph, gewöhnlich in sehr kleinen Kugeln aus und löst sich darnach leicht in Alkohol. Seiner Lösung in Chloroform lässt es sich durch Schütteln mit angesäuertem Wasser entziehen (Huppert).

Das von Saillet[3]) aus dem Harn gewonnene Hämatoporphyrin fällt bei annäherndem Neutralisieren seiner salzsauren Lösung mit Ammoniak als braunes amorphes Pulver aus. Es ist unlöslich in Petroläther, fast unlöslich in Wasser und in Chloroform, wenig löslich in Essigäther und in Schwefeläther, besser in Alkohol, sehr leicht in Essigsäure, in Oxalsäure, in Mineralsäuren und in Alkalien. In Gegenwart von Mineralsäure oder Alkali löst es sich leichter in Wasser als in Essigäther und in Schwefeläther, durch 5%ige Salzsäure wird es seiner Lösung in den beiden Äthern entzogen; in neutralem Zustand oder in Gegenwart von Essigsäure oder Oxalsäure oder einer Spur Mineralsäure löst es sich dagegen in den beiden Äthern besser als in Wasser, es wird aus der essigsauren Lösung durch die Äther aufgenommen.

Die alkoholische und die alkalische Lösung des von Nencki und Sieber dargestellten Hämatoporphyrins sind schön rot und zeigen ein Absorptionsspektrum mit 4 Streifen (das „alkalische" Spektrum, Taf. II, Spektrum 5b). Dasselbe Spektrum weist auch die alkoholische, mit Essigsäure angesäuerte Lösung auf. Das Anhydrid verhält sich spektroskopisch wie das Hydrat (Nencki und Sieber). An der Luft nimmt die alkalische Lösung allmählich einen bräunlichen Ton an.

Bei trockener Destillation entsteht aus dem Hämatoporphyrin Pyrrol, durch Oxydation mit Bichromat und Eisessig entstehen Hämatinsäuren. Es sind dies eine einbasische Säure von der Formel $C_8H_9NO_4$ und eine Säure $C_8H_8O_5$, die ein Anhydrid einer dreibasischen Säure $C_8H_{10}O_6$ darstellt. Nach den bisherigen Erfahrungen ist für das Hämatoporphyrin von $C_{34}H_{38}N_4O_6$ folgende Formel wahrscheinlich:



1) Nencki und Sieber. Monatshefte f. Ch. 9. 116. 1888; Archiv f. exper. Pathol. 18. 413; 24. 438. 1888.

2) Garrod, a. a. O. 13. 306.

3) Saillet, Revue de méd. 16. 545.

Digitized by Google

Dasselbe nur statt zwei OH-Gruppen mit 2 H wäre Phylloporphyrin.

2. Es bildet nach Nencki und Sieber mit Salzsäure ein in langen braunroten rhombischen Nadeln krystallisierendes Salz $C_{16}H_{18}N_2O_3$, HCl. Die Verbindung löst sich leicht in ganz schwach saurem Wasser, mit wachsender Konzentration der Säure nimmt aber die Löslichkeit ab. Durch Kochsalz, Chlormagnesium, Ammonsulfat und andere Neutralsalze wird das salzsaure Hämatoporphyrin gefällt; hat man Neutralsalz nicht bis zur Fällung eingetragen oder den bereits gebildeten Niederschlag abfiltriert, so krystallisiert die Verbindung beim Stehen der Lösung in Krystallbüscheln. Wasser zersetzt die Krystalle, in verdünnter Salzsäure sind sie aber haltbar; beim Erwärmen verharzt die Lösung leicht. Die Krystalle bräunen sich leicht im Licht; beim Trocknen über Schwefelsäure werden sie amorph. Die über Schwefelsäure und Natronkalk bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Krystalle lösen sich nicht mehr vollständig in Wasser, aber in Alkohol.

Die Lösungen in verdünnten Mineralsäuren sind lebhaft rot mit einem Stich ins Blaue und bieten das „saure" Absorptionsspektrum dar (Taf. II, 5 a). Eine alkoholische Lösung der über Schwefelsäure und Natronkalk vollständig getrockneten Krystalle zeigt das „fünfbandige alkalische" Spektrum (Taf. II, 5 c), auf Zusatz einer Spur Salzsäure zur Lösung verschwindet dieses aber und an seine Stelle tritt das „saure" Spektrum.

3. Das Hämatoporphyrin verbindet sich auch mit Metallen. Von diesen Verbindungen scheinen wenigstens die mit den Alkalien in zweierlei Form zu bestehen. Aus der Lösung von Hämatoporphyrin in warmer Natronlauge scheidet sich nach Nencki und Sieber beim Erkalten die Verbindung $C_{16}H_{17}NaN_2O_3, H_2O$ in kleinen Drusen brauner doppelbrechender Krystalle aus. Das Salz ist in Wasser bedeutend leichter löslich als das Chlorid, aber nur wenig in kaltem Alkohol. In Wasser leicht löslich sind ausserdem nur noch das Kalium- und das Ammonsalz. Salze mit anderen Metallen erhält man aus dem Natriumsalz durch Doppelzersetzung. Essigsaures Zink gab ein amorphes Salz von der Zusammensetzung $C_{16}H_{16}ZnN_2O_3, H_2O$, salpetersaures Silber ein Salz, welches annähernd die Zusammensetzung $C_{16}H_{17}AgN_2O_3$ hatte. Die Salze der schweren Metalle sind unlöslich, das Barium- und Calciumsalz nahezu unlöslich in Wasser. Auch die Metallverbindungen vertragen das Trocknen in höherer Temperatur nicht.

Von den Metallverbindungen des Hämatoporphyrins lässt sich eine Lösung des Zinksalzes leicht in der Weise darstellen, dass man eine ammoniakalisch gemachte Hämatoporphyrinlösung mit etwas Chlorzinklösung versetzt. Das alkalische Spektrum verschwindet und an seine

Digitized by Google

Stelle tritt das „metallische" Spektrum (Taf. II, 5d). Diese Umwandlung der Spektren vollzieht sich jedoch sehr langsam und ist oft erst nach Stunden vollendet. Die Geschwindigkeit der Reaktion scheint nach Hammarsten von dem Gehalt der Flüssigkeit an Zink und der Alkalescenz abzuhängen. Im Gegensatz zu dem Urobilin zeigt eine Lösung des reinen Salzes keine Spur einer Fluorescenz. Das Spektrum der Zinkverbindung ist zuerst von Mac Munn und danach von Hammarsten und von Garrod[1]) beschrieben worden.

Solche Metallsalze des Hämatoporphyrins lassen sich nach Riva und Zoja auch darstellen, wenn man eine Lösung des Farbstoffes in Amylalkohol (einen amylalkoholischen Harnauszug) mit Salzlösungen versetzt; es fallen dann die Metallverbindungen aus.

Die Bildung des Niederschlages erfolgt leichter, wenn man vor dem Zusatz des Salzes dem Amylalkohol ein wenig Ammoniak hinzufügt und dieses durch die erforderliche Menge Äthylalkohol in Lösung bringt. Zoja hat so Niederschläge erhalten mit Chlorcalcium und Chlorbarium, Chlorzink, Bleiacetat, Quecksilberchlorid, Zinnchlorür, und auch mit Chlorammon. Die Niederschläge lassen sich durch Waschen mit Amylalkohol und mit Äthylalkohol von anderen farbigen Substanzen (Urobilin) befreien und geben dann, in Alkohol suspendiert, das metallische Spektrum; nur scheint die Lage der Streifen, ihre Breite und Intensität nach der Art des Metalles etwas verschieden zu sein. Behandelt man sie mit Natriumcarbonat oder Natriumhydrat, so erhält man farbige Flüssigkeiten, welche gleichfalls das metallische Spektrum darbieten. Ihre Lösungen in salzsäurehaltigem Wasser sind prächtig violettrot und zeigen das saure Spektrum, und dieses wird, wenn man die Flüssigkeit alkalisch macht, zum alkalischen Spektrum. Nur der Bleiniederschlag macht eine Ausnahme. Das Blei fällt auch andere Farbstoffe, deren Spektren in der Lösung mit zum Vorschein kommen, und ausserdem können zugleich auch mehrere Spektren des Hämatoporphyrins nebeneinander auftreten, z. B. das saure und das fünfbandige alkalische. Zoja hat in den Lösungen des Bleiniederschlages oft auch noch einen breiten Streifen in der Mitte zwischen F und G, von der Lage des zweiten Luteinstreifens, beobachtet.

Der Zinkniederschlag ist flockig und braun, unlöslich in Wasser, Amylalkohol, absolutem Alkohol, Äther und Chloroform, löslich in konzentrierter und schwacher Natronlauge, in angesäuertem Alkohol und in konzentrierten und verdünnten Mineralsäuren; in zwei Versuchen von Zoja ging derselbe bei Verwendung eines Überschusses des Fällungsmittels (alkoholisch-ammoniakalischer Zinklösung) wieder in Lösung, und nach 12—18 Stunden hatten sich an der Wand des Glases Gruppen kleiner roter, in Alkohol unlöslicher Krystalle abgesetzt. Die beabsichtigte Darstellung solcher Krystalle gelang jedoch nicht. — Der Barytniederschlag war ziegelrot, der mit Zinnchlorür erhaltene Niederschlag oft rot.

Nach Zoja verschwindet in einer alkoholisch-ammoniakalischen Hämatoporphyrinlösung nach einiger Zeit das alkalische Spektrum und es tritt das metallische an seine Stelle; auch beide Spektren nebeneinander können zur Beobachtung gelangen. Eine ähnliche solche Ammonverbindung erhielt Saillet[2]) bei anhaltendem Kochen einer ammoniakalischen Hämatoporphyrinlösung.

Die anfangs hellrosenrote Lösung wird bald dunkelrosenrot, weist aber zunächst noch das alkalische Spektrum auf; bei weiterem Kochen tritt an die

[1]) Hammarsten, Skandin. Archiv 3. 329. — Garrod, a. a. O. 13. 613.
[2]) Saillet, Revue de méd. 16. 548.

Digitized by Google

Stelle dieses ein dem des Sauerstoff-Hämoglobins täuschend ähnliches; auf Zusatz von Säure erscheint jetzt sogleich das saure Spektrum. Setzt man das Kochen der ammoniakalischen Lösung unter Ersatz des verdunstenden Wassers sehr lang fort, so beginnt sich ein an der Wand des Gefässes haftender Niederschlag abzuscheiden; löst man den Niederschlag nach dem Erkalten in Ammoniak und neutralisiert oder übersättigt die Lösung mit Salzsäure, so fallen langsam blutrote Flocken aus, während das unveränderte Hämatoporphyrin in Lösung bleibt.

Nach dem Waschen des Niederschlages mit angesäuertem Wasser erweist sich der Niederschlag als unlöslich in Petroläther, Essig- und Schwefeläther, Chloroform, Mineralsäuren und in angesäuertem Wasser. Er löst sich sehr wenig in Wasser und in Alkohol, wenig in angesäuertem Äther, etwas besser in angesäuertem Alkohol, gut in Eisessig, sehr leicht in den Alkalien. In Gegenwart von Alkali ist die Verbindung leichter löslich in Wasser als in Essig- und in Schwefeläther, in Gegenwart einer Mineralsäure leichter löslich in den beiden Äthern als in Wasser.

Die Unlöslichkeit der Substanz in Säuren und in angesäuertem Wasser, und die leichte Löslichkeit des Hämatoporphyrins in ihnen ermöglicht eine schnelle und vollständige Trennung beider. Man säuert mit einer Mineralsäure an und schüttelt mit Schwefeläther, wobei sich ein Teil der Verbindung löst, der andere Teil sich in Flocken an der Grenzschicht abscheidet, während das Hämatoporphyrin in der sauren Flüssigkeit gelöst bleibt. Die Flocken lösen sich in einem Gemisch von Alkohol und Äther.

Die Lösungen besitzen eine dunkelrosenrote, von der des Hämatoporphyrins verschiedene Farbe, die in neutralen, sauren und alkalischen Lösungen nicht verschieden ist. Die Lösung (in Alkohol, Essigsäure, Alkalien) besitzt ein zweibandiges, dem des reduzierten Hämatins sehr ähnliches Spektrum, weshalb Saillet die Substanz als eisenfreies Hämochromogen bezeichnet. Der α im Spektrum des reduzierten Hämatins entsprechende Streifen ist wie dieser sehr dunkel, seine Mitte entspricht λ 563; der andere, nicht bis b reichende, ist sehr blass und nicht so scharf begrenzt wie der erste (mittlere Wellenlänge λ 527). Das erste Band verschwindet erst bei sehr starker Verdünnung und ist in einer fast farblosen Lösung in saurem Äther noch sichtbar. In der Beständigkeit des Spektrums in neutraler, saurer und alkalischer Lösung ist diese Verbindung vom reduzierten Hämatin verschieden. Die in Wasser suspendierte Substanz zeigt ein dem der Zinkverbindung ähnliches Spektrum (Taf. II, 5d), unterscheidet sich von ihm aber dadurch, dass das rechte Band nicht dunkel ist. Die Mitte des ersten Streifens liegt auf λ 580, die des zweiten auf λ 543. Bei gelindem Erwärmen mit Schwefelsäure oder beim Kochen mit Salzsäure geht die Verbindung wieder in das saure Hämatoporphyrin über.

Bei der Darstellung von Uroerythrin aus roten Uratsedimenten nach dem Verfahren von Riva und Zoja hat Garrod[1]) wiederholt auch das metallische Spektrum des Hämatoporphyrins im amylalkoholischen Auszug der Sedimente zu Gesicht bekommen.

Der Farbstoff löste sich auch in Chloroform mit roter Farbe, ferner in Essigäther, sowie in heissem absolutem Alkohol, aber nicht in kaltem. Ammoniak und Essigsäure liessen das Spektrum unverändert, Mineralsäuren verwandelten es sofort in das saure; die Lösung in Essigäther zeigte nach einigen Stunden ein dem neutralen ähnliches Spektrum. Die Substanz konnte dem Amylalkohol durch Schütteln mit konzentrierter Kochsalzlösung entzogen werden, während das Uroerythrin im Amylalkohol blieb. Das gewöhnliche Hämatoporphyrin geht aus dem Amylalkohol nicht in die Kochsalzlösung über.

4. Farbe.

Die Lösungen des Hämatoporphyrins von der Reinheit, wie man es nach dem Verfahren von Garrod aus Harn (und ebenso aus Blut)

[1]) Garrod, Journ. of Physiol. 15. 117.

Digitized by Google

gewinnt, besitzen alle eine schön rote Farbe mit einer Beimengung von Blau. Schwache Lösungen sind von der Farbe einer verdünnten Permanganatlösung oder einer neutralen Lackmuslösung (rosenrot, pink), stärkere Lösungen können als kirsch- und purpurrot bezeichnet werden. Die Verbindungen mit Mineralsäuren und die mit Metallen sind in ihren Lösungen lebhafter rot und etwas mehr nach Blau hin gefärbt, als die Lösungen des Hämatoporphyrins in Alkohol für sich oder nach Zusatz von Ammoniak; diese „alkalische" Lösung ist etwas gelblich rot. — In Lösungen der unreinen Substanz ist dem ursprünglichen Rot Gelb und Braun beigemischt.

5. Spektrum.

Die für die Beschreibung gewählte Bezeichnung der Spektren, die Garrod[1]) folgt, entspricht nicht überall dem chemischen Zustande, den der Name zum Ausdruck bringt. Doch wird es sich empfehlen, sie vorderhand beizubehalten. Einige der Spektren sind einander ausserordentlich ähnlich; für die Erkennung der einzelnen und die Unterscheidung von anderen ist es unbedingt nötig, sich über den Ort der Absorptionsstreifen mittels der Skala zu unterrichten. Man sieht die Spektren nur dann deutlich, wenn die Lösung in der zur Untersuchung gelangenden Dicke der Schicht eine ausgesprochene rote Farbe besitzt.

Der im folgenden gegebenen Darstellung liegen hauptsächlich die Angaben von Garrod und Hupperts eigene Erfahrungen zugrunde.

Neuere Untersuchungen, insbesondere für die Zwecke gerichtlicher Untersuchungen, rühren von A. Schulz, Takayama, Lewin-Miethe-Stenger, Rost-Franz-Heise[2]) her. Hier wurde an den älteren Unterscheidungen festgehalten, da dieselben besonders auf die Verhältnisse im Harn zugeschnitten sind.

a) Das saure Spektrum. Das Tafel II, 5a abgebildete Spektrum beobachtet man in der Flüssigkeit, welche man erhält, wenn man den nach Garrod dargestellten Phosphatniederschlag in salzsäurehaltigem Alkohol löst oder mit schwefesäurehaltigem Alkohol auszieht (C. I. 1. a. u. b. S. 1335). Der erste im Orange zwischen C 83 D und D 5 E gelegene dunkle Streifen α hat verwaschene Ränder und überragt mit dem rechten Rande D um ein Weniges. Der Streifen γ im Grün D 42 E—D 77 E ist viel dunkler als α, aber auch nicht scharf begrenzt. Von seinem linken

[1]) Garrod, Journ. of Physiol. 13. 607.

[2]) A. Schulz, Arch. f. Physiolog. Suppl. 271. 1904. — M. Takayama, Vierteljahresschr. f. gerichtl. Med. 29. 239. 1905. — L. Lewin, A. Miethe, E. Stenger, Pflügers Arch. 118. 80. 1907. — E. Rost, Fr. Franz, R. Heise, Mitteil. d. Reichsgesundheitsamts 1907. Bioch. Ztrbl. VI. N. 1890. 1907. — Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt 1908. Oktober.

Digitized by Google

Rand erstreckt sich nach Gelb hin, etwa bis D 15 E, ein schwacher Schatten, der an seinem linken Ende etwas dunkler ist. Diese Verstärkung des Schattens wird als das Band β bezeichnet. In der Abbildung ist noch eine Verdunklung des Spektrums dargestellt, die sich ungefähr von E violettwärts erstreckt; sie gehört wesentlich dem Urobilinstreifen an und ist, wie Garrod zuerst nachwies, in Lösungen von reinem Hämatoporphyrin, wie man sie z. B. durch Extraktion der sauren Lösung des Phosphatniederschlags mit Chloroform erhält, nicht zu sehen. Sehr konzentrierte Lösungen reiner Substanz zeigen nach Garrod aber noch einen blassen Schatten, der von E ein wenig über b hinausragt, also eine andere Lage besitzt als der Urobilinstreifen.

Nach Garrod ist die in Wellenlängen ausgedrückte Lage der Streifen für $\alpha = \lambda$ 597—587, $\beta = \lambda$ 576—565, $\gamma = \lambda$ 557—541. Nach Parmentier[1]) $\alpha = \lambda$ 599,5—588, $\beta = \lambda$ 576—565, $\gamma = \lambda$ 558—539.

Das saure Spektrum erhält man auch, wenn man eine Lösung des „alkalischen" Hämatoporphyrins mit einer Mineralsäure versetzt oder eine Metallverbindung des Farbstoffes mit einer Mineralsäure behandelt. Phosphorsäure verhält sich nach Garrod gegen das alkalische Hämatoporphyrin wie die anderen Mineralsäuren, zweifach saures Phosphat bewirkt diese Veränderung aber erst dann, wenn ein hoher Grad von Acidität erreicht ist. Zusatz von Essigsäure zu einer Lösung des freien Farbstoffes ruft das saure Spektrum aber nicht hervor (Nencki und Sieber). Wäscht man eine saure Lösung des Hämatoporphyrins in Chloroform mit Wasser, so tritt nach Garrod das neutrale und das alkalische, nach Salkowski[2]) das alkalische Spektrum auf.

Der sich an die linke Seite von γ anschliessende Schatten ist nach Garrod in sehr konzentrierten Lösungen gleichmässig dunkel; bei fortschreitender Verdünnung hellt sich die unmittelbar an γ angrenzende Stelle des Schattens auf und endlich löst sich β als selbständiges Band ab; bei weiterem Verdünnen verschwindet β und zugleich werden die beiden anderen Bänder an der Rot zugekehrten Seite zuerst schmaler, dann behalten sie die erlangte Breite und verblassen im ganzen, γ bleibt aber am Längsten sichtbar. Für die Identifizierung sind also die dem Violett zugekehrten Ränder der Streifen die wichtigeren.

Die Lage der Bänder ist keine konstante; sie hängt zum Teil vom Lösungsmittel ab. Die Streifen rücken nach Garrod um so mehr nach Rot zu, je höher das Molekulargewicht des Lösungsmittels ist, wie Untersuchungen mit Wasser, Äthyl- und Amylalkohol, Chloroform und Bromoform ergaben. Doch ist der Unterschied nur gering. Bei Verwendung von Äthylalkohol statt Wasser als Lösungsmittel rückt der rechte Rand von α um ungefähr zwei Drittel des Abstandes zweier Teilstriche der Skala, welche der Abbildung der Spektren beigegeben ist, und der rechte Rand von γ um nicht ganz einen Teilstrich nach links, und bei Verwendung von Chloroform statt Äthylalkohol beträgt die Verschiebung der beiden Bänder ungefähr ein Drittel und zwei Teilstriche. Enthält das Chloroform Alkohol, so ist die Lageveränderung der Streifen nur sehr gering oder gar nicht wahrnehmbar. Zwischen Äthyl- und Amylalkohol findet kein Unterschied statt.

Auch die Acidität ist nach Garrod von Einfluss auf die Lage der Streifen. Zusatz von Säure zur Lösung verschiebt sie nach Rot. Dieser Einfluss der Säure scheint aber unbedeutend zu sein.

---

[1]) H. Parmentier, Thèse de Paris 1905.

[2]) Garrod, a. a. O. 15. 111. — Garrod, a. a. O. 15. 115. — Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Ch. 15. 293.

Digitized by Google

b) Das alkalische vierbandige oder schlechthin das alkalische Spektrum (Tafel II, 5 b) hat einen schmalen Streifen α mit stark abgeblassten Rändern in Rot (C 40 D—C 57 D), einen zweiten β in Grün, der als schmaler Schatten nahe bei D beginnt und dessen dunkelste Stelle die Lage D 10 E—D 42 E einnimmt; er hört da auf, wo γ des sauren Spektrums beginnt. Der dritte, γ, liegt gleichfalls in Grün bei D 75 E—E 8 F und deckt mit seinem rechten verwaschenen Rande E. Der vierte, δ, auf der Grenze zwischen Grün und Blau, reicht von E 26 F—F 9 G, greift mit dem rechten verwaschenen Rande über F hinaus; er fällt nahezu mit dem Urobilinstreifen γ und mit β des Uroerythrinspektrums zusammen; bei schwacher Beleuchtung geht er ohne Grenze in die vom violetten Ende hereinragende Verdunkelung des Spektrums über. Von den Streifen sind α und β die blassesten und gleich dunkel, γ ist dunkler als diese und δ am dunkelsten. Fehlt α und wird δ übersehen, so können die beiden übrigen Bänder zu einer Verwechslung mit dem metallischen Spektrum Anlass geben.

Nach Wellenlängen (Garrod) $\alpha = \lambda$ 623—613, $\beta = \lambda$ 597—560, $\gamma = \lambda$ 541—526, $\delta = \lambda$ 512—491. Nach Parmentier $\alpha = \lambda$ 625—614, $\beta = \lambda$ 597—558, $\gamma = \lambda$ 541—526, $\delta = \gamma$ 512—490.

Dieses Spektrum ist das Spektrum des freien Hämatoporphyrins. Man sieht es an der Flüssigkeit, die man erhält, wenn man den nach Garrod dargestellten Phosphatniederschlag aus Harn mit schwefelsäurehaltigem Alkohol auszieht und den Auszug (mit Ammoniak) alkalisch macht (C. I. 1. a. β. S. 1335); die Lösung enthält aber dann doch Urobilin. Ohne den Urobilinstreifen kann man das Spektrum an dem Chloroformauszug beobachten, den man erhält, wenn man die Lösung des Phosphatniederschlages in einer Säure mit Chloroform schüttelt, ebenso an der alkoholischen Lösung des Abdampfrückstandes des Chloroformauszuges (C. I. 1. a. γ. und d. S. 1336). Nach einer solchen alkoholischen Lösung ist das Spektrum der Abbildung gezeichnet. Auch der Amylalkohol- und, nach Saillet, der Essigäther-Auszug des Harns bieten dieses Spektrum dar, aber zugleich mit dem des Urobilins und des Uroerythrins.

Bei fortschreitender Verdünnung verschwindet zuerst der Schatten vor β dann das Band in Rot, die Breite aber der Streifen ist wenig verändert, so lange sie sichtbar sind.

Auch im alkalischen Spektrum ist nach Garrod die Lage der Bänder abhängig vom Lösungsmittel und vom Grad der Alkalescenz. Setzt man zu einer wässerigen alkalischen Lösung wenig Alkohol, so rücken alle vier Bänder etwas nach Blau zu, auf Zusatz von mehr Alkohol nehmen α und β wieder die Lage ein, wie in der wässerigen Lösung, die beiden anderen bleiben aber nach Blau verschoben. Eine Lösung des Farbstoffes in reinem starken Alkohol zeigt γ und δ mehr nach Blau, γ mehr nach Rot zu, als eine wässerige Lösung, so dass das Spektrum mehr in die Breite gezogen erscheint. — Eine Erhöhung der Alkalescenz verrückt das ganze Spektrum nach Blau. — In einigen Fällen hat Garrod bei Gegenwart eines Überschusses von Ammoniak noch ein breites Band in der Mitte zwischen F und G, von der Lage des zweiten Luteinbandes gesehen, und dieselbe Wahrnehmung machte Stokvis[1]) an einer Lösung von Hämatoporphyrin in Alkali, das durch Fällen mit Essigsäure gewonnen worden war. Ein gleiches Band beobachtete Saillet bei einem Oxydationsprodukt des Hämatoporphyrins (B. 6.).

[1]) Garrod, a. a. O. 13. 612. — Stokvis, Tijdschr. a. a. O. 416.

Digitized by Google

Essigsäure und andere organische Säuren verändern das Spektrum nicht, Salzsäure führt es in das saure über, zweifach saures Phosphat nur bei starkem Ansäuern (Garrod), ammoniakalische Chlorzinklösung in das metallische. Macht man eine Lösung, welche neben Hämatoporphyrin noch Urobilin enthält, erst mit Ammoniak alkalisch und darauf mit Essigsäure sauer, so sieht man das alkalische Spektrum des Hämatoporphyrins neben dem sauren des Urobilins (Garrod und Hopkins). Le Nobel [1]) hat zuerst darauf aufmerksam gemacht, dass auch eine schwach saure Hämatoporphyrinlösung das alkalische Spektrum zeigt; versetzt man dementsprechend eine stark saure Lösung mit Alkali, so kann, lange bevor die alkalische Reaktion hergestellt ist, das alkalische Spektrum zum Vorschein kommen.

c) Das fünfbandige alkalische Spektrum unterscheidet sich von dem gleichnamigen vierbandigen lediglich dadurch, dass in ihm noch ein mit dem linken Rande an C angrenzendes schmales Band im Rot (Extraband e) zu sehen ist.

Dasselbe ist bald blasser, bald dunkler als α des alkalischen Spektrums; es schliesst sich an die vom roten Ende in das Spektrum hineinragende Verdunkelung an und es ist deshalb nicht immer ein Urteil darüber zu gewinnen, ob es zugegen ist oder nicht. Mac Munn, der es zuerst sah, war der Meinung, dass wenigstens das Extraband von einem anderen Farbstoff als dem Hämatoporphyrin herrühre, und in dieser Ansicht sind ihm andere gefolgt. Le Nobel schreibt das fünfbandige Spektrum einem von ihm „Substanz B" oder Isohämatoporphyrin benannten Farbstoff zu. Nencki und Sieber haben jedoch gezeigt, dass dem salzsauren Hämatoporphyrin bei Abwesenheit aller freien Salzsäure ein solches Spektrum zukommt, und ähnliches hat Hammarsten [2]) beobachtet. Freies Hämatoporphyrin und ein Salz desselben können nebeneinander vorkommen, und von dem Mengenverhältnis beider würde die Stärke des Extrabandes abhängen.

Mit dieser Deutung des Spektrums stehen einige andere Beobachtungen im Einklang. Extrahiert man Harn mit Amylalkohol, so zeigt der Alkohol das vierbandige alkalische Spektrum, das fünfbandige, aber nach Zoja dann und nur dann, wenn der Harn vorher mit Essigsäure oder Salzsäure versetzt war; Salkowski sah an dem Amylalkoholauszug des mit Salzsäure angesäuerten Harns das saure Spektrum. Gegen eine Lösung von alkalischem Hämatoporphyrin in verdünntem Alkohol verhält sich der reine Amylalkohol wie gegen den nativen Harn; war der Amylalkohol aber erst mit verdünnter Salzsäure, dann mit Wasser gewaschen, so bietet er nach Garrod, wenn er mit der Lösung des freien Hämatoporphyrins geschüttelt worden ist, das fünfbandige Spektrum dar. — Zoja [3]) beobachtete, dass die Lösung eines Zinkniederschlages in saurem Alkohol beim Übersättigen mit Ammoniak das saure Spektrum in das fünfbandige alkalische verwandelte.

d) Das neutrale Spektrum. Ein solches stellt das Spektrum Tafel II, 5c dar. Es erscheint aus dem sauren und dem alkalischen zusammengesetzt. In demselben entsprechen α, β und γ dem stark nach Rot vorgeschobenen sauren Spektrum; α des sauren Spektrums fällt mit α des alkalischen zusammen, γ des sauren Spektrums ist mit β des alkalischen zu einem Band vereinigt, δ im neutralen Spektrum ist das etwas nach Blau gerückte γ des alkalischen Spektrums, ε im neu-

[1]) Garrod und Hopkins, Journ. of Physiol. 20. 128. 1896. — Le Nobel, Pflügers Archiv 40. 510. 512. 1887.

[2]) Le Nobel, Pflügers Archiv 40. 523. 1887. — Nencki und Sieber, Archiv f. exper. Pathol. 24. 436. — Hammarsten, Skandin. Archiv 3. 326.

[3]) Zoja, Archivio italiano, a. a. O. 5 u. 13. — Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Ch. 15. 291. — Garrod, a. a. O. 15. 115. — Zoja, a. a. O. 25.

Digitized by Google

tralen Spektrum hat dieselbe Lage wie δ im alkalischen. In der Abbildung, welche Saillet[1]) von dem neutralen Spektrum gibt, erscheint γ als das zweiteilige β des alkalischen Spektrums. Dieses Spektrum scheint das der Verbindung des Hämatoporphyrins mit einer schwachen Säure oder mit wenig einer starken Säure zu sein.

In Wellenlängen α und β = λ 625—616, γ = λ 576—553, δ = λ 540—522, ε = λ 512—486. Nach Parmentier α = λ 626—620, β = λ 617—612, γ = λ 578—552, δ = λ 541—520, ε = λ 512—482.

Das Bild ist gezeichnet nach dem Spektrum, welches Chloroform darbot, das nach der Vorschrift von Garrod mit der Lösung des Phosphatniederschlages aus Harn in viel konzentrierter Essigsäure geschüttelt worden war (C. I. 1. a. δ. S. 1337). Über das Zustandekommen und die Veränderungen des Spektrums macht Garrod[2]) noch folgende Angaben. Man sieht es in Chloroformlösungen des (sauren) Farbstoffes aus Harn, wenn diese mit Wasser gewaschen und mit etwas Alkohol geklärt worden waren, oder wenn nach freiwilligem Verdunsten des Chloroforms der Rückstand in Alkohol gelöst wurde. Wird das Chloroform mit dem neutralen Spektrum noch weiter mit Wasser gewaschen, so erscheint das alkalische Spektrum. — Auf Zusatz von zweifach saurem Alkaliphosphat zu einer Lösung von neutralem Hämatoporphyrin in verdünntem Alkohol tritt erst das alkalische Spektrum auf, dann, wenn die Lösung bereits stark sauer geworden ist, wieder das neutrale und endlich das saure. — Im Amylalkoholauszug des Harns verwandelt sich das alkalische Spektrum auf Zusatz einer sehr geringen Menge Salzsäure in das neutrale. — Eine Spur Alkali führt nach Garrod das neutrale Spektrum in das alkalische über. Tetrachlorkohlenstoff nimmt aus der Lösung mit dem neutralen Spektrum den Farbstoff sehr leicht auf, aber mit dem alkalischen Spektrum. Saillet sah das neutrale Spektrum bei dem nach seiner Art (C. II. 2. S. 1341) dargestellten Farbstoff, sowohl, wenn er in reinem Alkohol oder in reinem Schwefel- oder Essigäther gelöst war, als bei Gegenwart von Essigsäure oder Oxalsäure.

Von der Chloroformlösung, welche die Abbildung geliefert hatte, wurde das Chloroform abgedunstet. Es hinterblieb eine stark essigsaure, schön rosenrote Flüssigkeit, welche zwar noch ein neutrales Spektrum zeigte, aber mit etwas anderer Lage und Form der Streifen. Es waren α und β etwas mehr nach D zu gerückt, γ besass die frühere Lage und Breite, war aber nicht mehr am linken Rande, sondern in der Mitte am dunkelsten; d reichte jetzt bis b und war links abschattiert, ε war etwas schmaler und sehr blass geworden. Nachdem auch die übrige Flüssigkeit verdunstet war, blieb ein kirschroter Rückstand zurück, der sich, wie auch Garrod an solchem Rückstand beobachtete, sehr schlecht in Alkohol löste; er löste sich aber leicht nach Zufügen von Salzsäure. Jetzt war das typische saure Spektrum zu sehen, daneben aber noch δ und ε des neutralen Spektrums (etwas blasser als im neutralen Spektrum), und dieses Spektrum hielt sich wochenlang. Ammoniak rief sofort das gewöhnliche alkalische Spektrum hervor, nach Zusatz von Salzsäure trat aber wieder das zuletzt beschriebene gemischte Spektrum auf.

e) Das metallische Spektrum ist das Spektrum 5d Taf. II. Es ist dem des Sauerstoff-Hämoglobins ausserordentlich ähnlich, unterscheidet sich von ihm jedoch dadurch, dass der zweite Streifen, β, dunkler und schmäler ist als der im Hämoglobinspektrum und mit seinem rechten Rande nicht bis an E heranreicht; α liegt bei D—D 25 E, oder, wenn der Streifen breiter ist, bei C 96 D—D 30 E, β bei D 59 E—D 90 E.

[1]) Saillet, Revue de méd. **16.** 544.

[2]) Garrod, a. a. O. **17.** 350. — Derselbe, a. a. O. **13.** 610 u. **15.** 112 ff.

In sehr konzentrierten Lösungen hat Garrod auch noch einen sehr schmalen, blassen Streifen zwischen den beiden dunkleren Bändern gesehen. Über die Bildung und die Verwandlung dieses Spektrums vgl. B. 3. S. 1324.

In Wellenlängen $\alpha = \lambda$ 586—570, $\beta = \lambda$ 552—533.

Das besondere metallische Spektrum der von Saillet dargestellten Ammonverbindung des Hämatoporphyrins ist S. 1326 beschrieben.

f) Obwohl die bis jetzt vorliegenden Erfahrungen über die Abhängigkeit der Spektren von den Verbindungen des Hämatoporphyrins noch nicht ausreichen, sich in allen Fällen eine unanfechtbare Vorstellung von diesen Verhältnissen zu machen, so ist doch folgende Auffassung gestattet oder wenigstens nützlich.

Das alkalische (4 bandige) Spektrum ist das Spektrum des freien Hämatoporphyrins in alkoholischer oder alkalischer Lösung.

Das saure, das alkalische 5 bandige und das neutrale Spektrum sind Spektren der Verbindungen des Farbstoffes mit Säuren. Das alkalische 5 bandige Spektrum tritt auf in der neutralen, von freien Säuren freien Verbindung des Hämatoporphyrins mit einer Mineralsäure. Das saure Spektrum gehört derselben Art der Verbindung in Gegenwart überschüssiger Mineralsäure an. Das neutrale Spektrum, ein aus dem sauren und dem alkalischen Spektrum wirklich oder nur scheinbar kombiniertes, wird beobachtet an der Verbindung des Hämatoporphyrins mit einer schwachen Säure (Essigsäure) oder geringeren Menge Mineralsäure, als zur Herstellung des neutralen Salzes erforderlich sind.

Das metallische Spektrum ist das einer eigenartigen Verbindung des Farbstoffs mit Metall, die verschieden ist von der, welche entsteht, wenn das Hämatoporphyrin in Alkali gelöst ist.

6. Zersetzungen. Beim Erhitzen entwickelt das Hämatoporphyrin, wie das Hämatin, nach Nencki und Sieber, einen dicken Dampf und den Geruch nach Pyrrol. Es löst sich in warmer rauchender Salpetersäure mit roter Farbe, die Lösung wird darauf grün, blau und gelb; es verhält sich also ähnlich wie der Gallenfarbstoff bei der Gmelinschen Probe. Von Natriumamalgam, sowie von Eisen und Essigsäure wird es nicht angegriffen, Kochen mit Zinn und Salzsäure in alkoholischer Lösung führt es dagegen in einen Körper über, welcher spektroskopisch grosse Ähnlichkeit mit dem Urobilin besitzt; nach dem Übersättigen der Reaktionsflüssigkeit mit Alkali tritt ein an Skatol erinnernder Geruch auf. — Alle diese Reaktionen hat Zoja auch an der Zinkverbindung des Hämatoporphyrins aus Harn wahrgenommen. Saillet[1]) sah bei dem mit Zinn und Salzsäure behandelten Hämato-

[1]) Zoja, Archivio italiano, a. a. O. 5; Archives ital. de Biol. 19. fasc. 3. — Saillet, Revue de méd. 16. 547.

Digitized by Google

porphyrin aus Harn einen Streifen in der Lage des sauren Urobilinbandes. In der durch gelbe Salpetersäure grün gewordenen Lösung nahm Saillet zwei Streifen wahr, wie α und β des sauren Spektrums, aber breiter und deutlicher als diese und ein wenig nach links verschoben (sie könnten α und β des sauren Bilicyanins gewesen sein); sie verschwinden später. Mit Salzsäure und Kaliumchlorat wird das Hämatoporphyrin aus Harn nach Saillet schnell gelblich grün, und die Lösung weist dann ein breites und dunkles Band zwischen F und G auf von der mittleren Wellenlänge λ 463.

7 Über die Verbindung, in welcher das Hämatoporphyrin im Harn vorkommt, kann die spektroskopische Untersuchung Aufschluss geben. In den meisten Fällen ist am Harn überhaupt kein Spektrum wahrzunehmen; wo aber ein Hämatoporphyrin-Spektrum gesehen wurde, waren die Befunde verschieden. Öfter wurde in Sulfonalharnen das alkalische Spektrum ganz oder teilweise gesehen, so u. a. von Stokvis, Hammarsten, Salkowski, von Garrod auch im gewöhnlichen Harn, seltener das fünfbandige alkalische Spektrum (Copeman, Garrod). Auch das metallische Spektrum ist beobachtet worden, so von Neusser, ferner einmal im Dialysat eines Sulfonalharns von Stokvis und einmal von Hammarsten an einem in starker alkalischer Gärung begriffenen Sulfonalharn. Nach Garrod[1]) ist im Sulfonalharn das Hämatoporphyrin ganz oder teilweise als metallisches zugegen. Eine Verbindung des Hämatoporphyrins, welche das metallische Spektrum besass, hat Garrod (B. 3. S. 1326) in Uratsedimenten aufgefunden.

In Übereinstimmung hiermit stehen die Beobachtungen, welche am Amylalkoholauszug des Harns gemacht wurden; Zoja sah hier bloss das alkalische Spektrum, das fünfbandige alkalische nur dann, wenn der Harn vor der Extraktion mit einer Säure versetzt war; Garrod[2]) traf meist auch nur das vierbandige an, aber auch, wiewohl seltener, am nativen Harn das fünfbandige alkalische.

Das B. 5. d. S. 1330 geschilderte Verhalten des zweifach sauren Phosphats zu dem Hämatoporphyrin erklärt, warum es im Harn zumeist als alkalisches zugegen ist. Der Harn selbst verhält sich nicht anders, als eine Lösung von zweifach saurem Phosphat. Setzt man normalem Harn salzsaures Hämatoporphyrin zu, so tritt nach Salkowski das alkalische Spektrum auf. Ebenso verhält sich nach Garrod[3]) eine Lösung von Hämatoporphyrin, welche das neutrale Spektrum zeigt, zu Harn; macht man eine Lösung von Hämatoporphyrin in Harn (mit dem alkalischen Spektrum) mit zweifach saurem Alkaliphosphat stark sauer, so sieht

[1]) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Ch. **15**. 287. — Garrod, Journ. of Physiol. **15**. 110. — Hammarsten, Skandin. Archiv **3**. 336. — Garrod, Edinburgh med. Journ., Aug. 1897. 112 und a. a. O. **15**. 117.

[2]) Garrod, Journ. of Phyiol. **15**. 113.

[3]) Salkowski, a. a. O. 286. — Garrod, a. a. O. **15**. 111.

Digitized by Google

man ein aus dem sauren und dem alkalischen zusammengesetztes Spektrum; das wäre, nach Hupperts Auffassung, das neutrale.

Wenn das fünfbandige alkalische Spektrum das Spektrum einer von überschüssiger Säure freien Verbindung des Hämatoporphyrins mit einer Mineralsäure darstellt, so besteht keine besondere Schwierigkeit, das Auftreten dieses Spektrums im Harn zu erklären.

Die Wahrnehmung des metallischen Spektrums in ammoniakalischem Harn steht im Einklang mit den Beobachtungen Zojas (B. 3. S. 1325) über das Verhalten des Ammoniaks zum Hämatoporphyrin.

Neben dem Hämatoporphyrin selbst enthält der Harn noch ein Chromogen des Farbstoffs.

In Harn, welcher für sich kein Spektrum erkennen lässt, kommt öfter auf Zusatz von Alkali das alkalische, auf Zusatz von Säure das saure Spektrum zum Vorschein. — Fällt man nach Eichholz Fieberharn durch Sättigen mit neutralem Ammonsulfat und löst den Niederschlag in absolutem Alkohol, so sieht man in dieser neutralen Lösung nur einen Streifen in der Lage des Urobilinbandes, zu dem sich auf Zusatz von Säure noch das Band des sauren Hämatoporphyrins zwischen D und E gesellt. — Nach Riva und Zoja werden die amylalkoholischen Auszüge aus Harn beim Stehen dunkler, die Bänder des alkalischen Spektrums werden deutlicher und es tritt der vorher nicht sichtbare Streifen α auf. Saillet [1]) sah in dem bei künstlicher Beleuchtung hergestellten Essigätherauszug des mit Essigsäure versetzten normalen Harns im Sonnenlicht die Menge des Hämatoporphyrins auf das Vierfache steigen.

Da das Hämochromogen (reduziertes Hämatin) durch selbst schwache Säuren zu Hämatoporphyrin zersetzt wird, so könnte man in ihm die Muttersubstanz des Hämatoporphyrins vermuten. Aber es ist wohl nicht wahrscheinlich, dass dieser leicht Sauerstoff aufnehmende Körper im Harn vorkommt; auch ist sein Spektrum im Harn nicht einmal andeutungsweise gesehen worden.

C. Nachweis. Aus der Farbe des Harns lässt sich, wenn er nicht so dunkelrot ist wie Sulfonalharn, kein Schluss auf die Gegenwart des Hämatoporphyrins im Harn oder gar über seine Menge ziehen; der rötliche Schimmer, welchen der Harn öfter besitzt, rührt zumeist vom Uroerythrin her.

Die direkte spektroskopische Untersuchung gibt auch nur in seltenen Fällen Aufschluss; die allgemeine Verdunkelung des Spektrums durch andere Harnfarbstoffe und der geringe Gehalt des Harns an Hämatoporphyrin erschweren die Wahrnehmung. Manchmal tritt aber hier noch auf Zusatz von viel Salzsäure das saure, auf Zusatz von Alkalihydrat das alkalische Spektrum hervor.

Welche Spektren am nativen Harn beobachtet werden können und wie sie zu deuten sind, ist unter B. 7. auseinander gesetzt. Im normalen Harn sah Garrod [2]) niemals ein Hämatoporphyrinspektrum, bei der Untersuchung mehrerer Hundert pathologischer Harne den Streifen in Rot nur vier- oder fünfmal; das metallische Spektrum ist wegen der allgemeinen Verdunkelung des Spektrums durch andere Farbstoffe oft schwer zu sehen, auf Zusatz von Salzsäure tritt aber das saure Spektrum hervor. Die blosse Besichtigung ist für die Beurteilung der

[1]) A. Eichholz, Journ. of Physiol. **14**. 332. 1893. — Zoja, Archivio ital., a. a. O. 32; Archives ital., a. a. O. — Riva und Zoja, Gaz. med. di Torino, a. a. O. — Saillet, Revue de méd. **16**. 551.

[2]) Garrod, Edinburgh med. Journ. Aug. 1897. 112.

Digitized by Google

Spektren jedoch nicht ausreichend, für eine sichere Beurteilung derselben ist es unerlässlich, die Lage der Streifen genau festzustellen.

Zum Nachweis des Hämatoporphyrins können zweierlei Verfahrungsweisen dienen, die Fällung des Farbstoffes und die Extraktion desselben.

I. Nachweis durch Fällung.

1. a) Das Verfahren von Garrod[1]) ist nicht nur unter den Fällungsmethoden, sondern überhaupt das beste; obwohl sich in der Regel ein Teil des Hämatoporphyrins der Fällung entzieht, ermöglicht es doch in einfacher Art den Nachweis selbst so geringer Mengen Hämatoporphyrin, wie sie im normalen Harn vorkommen, und liefert zugleich ein reineres Präparat als andere Methoden. Das Verfahren beruht darauf, dass bei reichlichem Zusatz von Kali- oder Natronlauge zu Harn mit den Erdalkaliphosphaten, offenbar in chemischer Bindung, das Hämatoporphyrin ausfällt. Auf 100 ccm Harn verwendet man dazu 20 ccm einer 10%igen Lauge. Der Niederschlag wird gewaschen und mit säurehaltigem Alkohol behandelt, wobei der Farbstoff in Lösung geht. Diese Lösung zeigt das saure Spektrum des Hämatoporphyrins, bei alkalischer Reaktion das alkalische, auch wenn der Harn direkt ein anderes Spektrum (B. 7) aufwies. Zur weiteren Reinigung entzieht man den Farbstoff seiner Lösung durch Chloroform.

Das Hämatoporphyrin ist nach diesem Verfahren schon in 150—350 ccm pathologischem und in 200—400 ccm bis 1 Liter normalem Harn nachweisbar, doch tut man jedenfalls gut, grössere Mengen in Arbeit zu nehmen. Der Harn muss mit der Lauge einen so starken Phosphatniederschlag geben, als normaler Harn; man untersucht also vor der Fällung eine Probe im Reagenzglas daraufhin. Ist der Niederschlag viel geringer, was jedoch nur selten der Fall ist, so fügt man dem Harne vor der Fällung eine Lösung von Calciumphosphat in Essigsäure hinzu, das man durch Fällen von Chlorcalcium mit Natriumphosphat im Reagenzglas bereitet. Es bedarf nur geringer Mengen des Phosphats, ein zu starker Niederschlag erschwert seine weitere Verarbeitung und schmälert die Ausbeute erheblich. Bei der Fällung mit der Lauge ist man nicht an die von Garrod angegebene Konzentration derselben gebunden, es kommt nur darauf an, dass man dem Harn auf 100 ccm mit der Lauge 2 g Natriumhydrat hinzufügt. Aber die Lauge lässt sich nicht durch Ammoniak ersetzen; denn obwohl dieses auch einen Phosphatniederschlag gibt, so enthält er doch selbst bei Verwendung eines an Hämatoporphyrin reichen Harns nur Spuren oder gar keinen Farbstoff. Man lässt den Niederschlag sich absetzen, hebt die überstehende Flüssigkeit ab und bringt erst dann den Niederschlag auf das Filter.

Der Niederschlag ist dann zu waschen; das kann in gewöhnlicher Weise geschehen, schneller aber kommt man zum Ziele, wenn man nach Garrod den Niederschlag wiederholt vom Filter spritzt, in Wasser verteilt und auf dasselbe Filter zurückbringt. Will man das Hämatoporphyrin möglichst frei haben von anderen Farbstoffen, so wäscht man so lang, bis die Flüssigkeit farblos abläuft. Man erleidet dabei aber einen Verlust an Farbstoff und handelt es sich um den Nachweis nur geringer Mengen Hämatoporphyrin, so ist das Auswaschen nicht zu weit zu treiben oder ganz zu unterlassen; in diesem Falle ist der Niederschlag

[1]) Garrod, Journ. of Physiol. 17. 349; 13. 603.

aber nach dem unten beschriebenen Verfahren weiter zu behandeln, bei welchem der Farbstoff aus der essigsauren Lösung in Chloroform übergeführt wird. Der gewaschene Niederschlag ist, je nach der Menge des gefällten Hämatoporphyrins, rosen- bis purpurrot, besitzt aber oft auch einen Stich ins Gelbe oder Braune.

Die Art der weiteren Verarbeitung des Niederschlages hängt davon ab, ob man das Hämatoporphyrin überhaupt nur nachweisen will, und zwar bloss durch das saure Spektrum oder auch durch andere, und ob es darauf ankommt, das Hämatoporphyrin von anderen Harnfarbstoffen, namentlich dem Urobilin, zu befreien.

α) Für den Nachweis des Hämatoporphyrins durch das saure Spektrum allein genügt es, den gewaschenen Phosphatniederschlag auf dem Filter in salzsäurehaltigem Alkohol zu lösen. Man legt das Filter zunächst, um es einigermassen vom Wasser zu befreien, auf Fliesspapier, oder verdrängt das Wasser durch Alkohol und übergiesst dann den Niederschlag auf dem Trichter mit nicht viel mehr als 10 ccm Alkohol, dem reichlich Salzsäure zugesetzt ist. Durch Zerkleinern des Niederschlages mit einem Glasstab beschleunigt man die Lösung. Damit das Volumen der Lösung und damit ihre Verdünnung nicht zu gross wird, benutzt man das Filtrat, um den auf dem Filter gebliebenen Rest des Niederschlages zu lösen; nötigenfalls fügt man der Flüssigkeit noch etwas Salzsäure hinzu. Die Lösung besitzt eine rote Farbe mit einem Stich ins Gelbe oder Braune und zeigt das saure Spektrum, daneben gewöhnlich auch noch das Urobilinspektrum. Durch Zusatz von Ammoniak oder einem anderen Alkali kann man jedoch das alkalische Spektrum nicht hervorrufen, denn dadurch fällt der Farbstoff zugleich mit dem Phosphat wieder aus. Es ist vielmehr nach β oder γ zu verfahren.

β) Eine Lösung, an welcher man, ausser dem sauren, auch das alkalische und das metallische Spektrum zur Erscheinung bringen kann, erhält man, wenn man den Niederschlag, wie bei α), mit schwefelsäurehaltigem Alkohol behandelt. Nur hat man durch fleissiges Zerreiben des Niederschlages und Verwendung einer genügenden Menge Schwefelsäure dafür zu sorgen, dass nicht etwa ein grösserer Teil des Phosphats der Zerlegung entgeht.

Die Basis des Phosphats bleibt dabei als Sulfat auf dem Filter, und das Filtrat stellt eine Lösung des Farbstoffes allein in saurem Alkohol dar. Sie weist das saure Spektrum auf. Fügt man Ammoniak im Überschuss hinzu, so entsteht abermals ein Niederschlag, der nun aber aus den im Alkohol unlöslichen Ammonsalzen der vorhandenen Säuren besteht; das Filtrat zeigt das alkalische Spektrum.

Das metallische Spektrum kann man zu Gesicht bekommen, wenn man diesem alkalischen Filtrat ein wenig einer Lösung von Chlorzink in ammoniakalischem Alkohol hinzufügt, einen entstehenden Niederschlag durch Zusatz von noch mehr Ammoniak in Lösung zu bringen sucht, und wenn dies nicht gelingt, ihn abfiltriert. Es verschwindet dann das alkalische Spektrum sehr langsam, oft erst im Verlauf mehrerer Stunden vollständig, und an seine Stelle tritt das metallische, daneben ist meist auch das Urobilinspektrum zu sehen.

γ) Man kann auch aus der salzsauren Lösung des Phosphatniederschlages in salzsäurehaltigem Alkohol den Farbstoff nach einem von Garrod und von Zoja[1]) angegebenen Verfahren in Chloroform überführen und so vom Urobilin trennen. Zu diesem Zweck vermischt man die alkoholische Lösung in einem kleinen Scheidetrichter mit ungefähr 10 ccm Chloroform; löst sich dieses nicht ganz, so bewirkt man die Lösung durch Zusatz von noch etwas Alkohol. Dann fügt man, ohne viel zu schütteln, ungefähr das doppelte Volumen Wasser zu, worauf sich eine Lösung von Hämatoporphyrin in Chloroform absetzt. Das Chloroform wird möglichst bald von der übrigen Flüssigkeit getrennt, ein- oder

[1]) Garrod, a. a. O. **13**. 603. 1893. — Zoja, Archives ital. de Biol. **19**. fasc. 3. 1893.

Digitized by Google

zweimal mit Wasser geschüttelt und durch ein doppeltes, trockenes Filter filtriert. Die rosenrote Lösung zeigt das alkalische Spektrum, ausnahmsweise das saure; ist dies der Fall, so kann man nach Garrod durch Schütteln des Chloroforms mit Wasser das alkalische Spektrum hervorrufen. Verdunstet man das Chloroform und löst den braunen Rückstand in Alkohol, so erhält man eine Lösung mit dem alkalischen Spektrum. Zusatz von Mineralsäure bringt sofort das saure Spektrum hervor; beim Behandeln der alkoholischen Lösung mit ammoniakalischer Chlorzinklösung nach β) entsteht das metallische Spektrum. Die mit dem Chloroformauszug hergestellten Spektren unterscheiden sich von den direkt erhaltenen dadurch, dass sie meistens ganz frei sind von dem Urobilinspektrum.

Die Überführung des Hämatoporphyrins aus der sauren alkoholischen Lösung in Chloroform hat nur den Übelstand, dass sie nicht immer vollkommen gelingt. Ist das Hämatoporphyrin ganz in das Chloroform übergegangen, so ist die rückständige Flüssigkeit gelb gefärbt, andernfalls rötlichgelb. Es ist nicht bekannt, wovon dieser häufige Misserfolg abhängt.

δ) Eine vollständige Überführung des Hämatoporphyrins in das Chloroform gelingt nach folgendem, gleichfalls von Garrod [1]) angegebenen Verfahren. Die nach α) bereitete Lösung des Phosphatniederschlages in salzsäurehaltigem Alkohol wird mit Ammoniak übersättigt, wobei mit dem Phosphat wieder das Hämatoporphyrin ausfällt, und der Niederschlag in der Flüssigkeit direkt wieder in Essigsäure gelöst. Ebenso leicht kommt man nach Huppert zum Ziele, wenn man den Phosphatniederschlag gleich in Essigsäure löst. In beiden Fällen widersteht aber ein Rest farbstoffhaltigen Niederschlages der Lösung. Das Filtrat der essigsauren Lösung wird dann, ohne Zusatz von Alkohol, mit Chloroform ausgeschüttelt. Das Chloroform setzt sich leicht mit rein roter oder bräunlichroter Farbe ab und enthält neben Essigsäure alles Hämatoporphyrin, während die überstehende Flüssigkeit gelb ist. Beim Verdunsten des Chloroforms bleibt zunächst eine schön rote, öfters auch gelbliche essigsaure Lösung zurück, und bringt man auch diese zur Trockne, so erhält man nicht, wie bei dem Verdunsten der oben erwähnten Chloroformlösungen einen braunen, sondern einen rosenroten Rückstand, der sich nicht immer leicht in reinem Alkohol, sondern erst in salzsäurehaltigem Alkohol löst.

Dieses Verfahren hat vor dem anderen ausser der vollständigeren Gewinnung des Farbstoffes noch den Vorzug, dass man den Phosphatniederschlag nicht so sorgfältig mit Wasser zu waschen braucht, als bei den anderen Methoden. Die Chloroformlösung zeigt die vier Streifen des alkalischen Spektrums, daneben oft auch den Urobilinstreifen, und wenn der Phosphatniederschlag in einem grossen Überschuss starker Essigsäure gelöst war, auch das neutrale Spektrum. An der Lösung des Abdampfungsrückstandes in salzsäurehaltigem Alkohol sind neben dem sauren Spektrum mit der gewöhnlichen Lage seiner Streifen vom alkalischen Spektrum noch die beiden nach Violett zu gelegenen, aber blass, zu sehen. (Vgl. B. 5. d. S. 1331.)

Zur Entfernung der letzten Reste Urobilin in den so gewonnenen Hämatoporphyrinlösungen könnte man von einem Verfahren Gebrauch machen, welches Le Nobel, sowie Zoja zur Trennung beider Farbstoffe empfohlen haben. Schüttelt man nämlich eine urobilinhaltige saure wässerige Lösung von Hämatoporphyrin mit Chloroform, so geht das Urobilin in das Chloroform über, während das Hämatoporphyrin im sauren Wasser zurückbleibt. Die Scheidung ist aber nur eine unvollkommene; denn wenn das Chloroform schon kein Urobilin mehr aufnimmt, ist nach Garrod [2]) die wässerige Lösung doch nicht ganz frei vom Urobilin.

Bei der Anstellung der spektroskopischen Untersuchung ist zu beachten, dass die Lösungen in solcher Konzentration oder Dicke der Schicht

[1]) Garrod, a. a. O. **17.** 350.

[2]) Le Nobel, Pflügers Archiv **40.** 514. — Zoja, Archivio ital., a. a. O. 4; Archives ital. de Biol., a. a. O. 4. — Garrod, a. a. O. **13.** 618.

Digitized by Google

untersucht werden müssen, dass die Flüssigkeit ausgeprochen rot erscheint. Unter Befolgung der oben (unter *a*) gegebenen Vorschrift für die Herstellung der Lösung genügt eine Dicke der Schicht von 5—10 cm. Konzentrierte Lösungen zeigen das Spektrum deutlicher, in schwächeren ist es nur unvollständig oder nur andeutungsweise und gar nicht zu sehen. Das gilt insbesondere für das alkalische Spektrum, welches bei gleicher Konzentration der Lösung schwächer ist, als das saure und das metallische.

Für den spektroskopischen Nachweis genügt in den meisten Fällen das Auftreten des sauren Spektrums, da dieses mit keinem sonst bekannten verwechselt werden kann. Zur Sicherung des Befundes kann, wenn es nötig ist, die Darstellung des alkalischen und die des metallischen Spektrums dienen.

Andere Farbstoffe können bei dem Verfahren von Garrod die Beobachtung in mehr oder minder erheblichem Grade erschweren. Bei Gegenwart von viel Uroerythrin im Harn ist der Phosphatniederschlag schmutzig grün, doch verschwindet diese Färbung beim Waschen des Niederschlags wieder. Enthielt der Harn Blut, so tritt neben dem Spektrum des Hämatoporphyrins auch das des Hämatins auf. War Chrysophansäure vorhanden, so besitzt der Phosphatniederschlag nach Garrod [1]) eine schön bläulichrote Farbe, die sich nicht wegwaschen lässt. Die Lösung des Niederschlages in saurem Alkohol ist nicht rot, sondern gelb, sie weist aber dabei noch das saure Spektrum des Hämatoporphyrins auf, wenn welches vorhanden ist; auf Zusatz von Ammoniak tritt aber eine störende breite Absorption in der Mitte des Spektrums auf. Chloroform nimmt die Chrysophansäure leichter auf als das Hämatoporphyrin, und so lassen sich beide Farbstoffe noch einigermassen trennen.

b) Verfahren von Stokvis [2]). 50 ccm Harn werden mit 5 ccm 10%iger Kalilauge zum Sieden erhitzt. Der Phosphatniederschlag wird auf einem kleinen Filter gesammelt und dann mit 25—30%iger Essigsäure ausgezogen; der Extrakt wird mit Äther gut durchgeschüttelt. Das Hämatoporphyrin geht in den Äther über, wo es spektroskopisch erkannt werden kann.

2. Andere Fällungsarten. a) Die Fällung des Harns mit den Bleiacetaten, welche Mac Munn zur Entdeckung des Hämatoporphyrins im Harn führte, ist schon darum nicht geeignet, weil diese Salze alle Farbstoffe des Harns fällen und eine nachträgliche Trennung derselben in dem mit säurehaltigem Alkohol bereiteten Auszug nötig machen. Die später von Salkowski und von Hammarsten [3]) ausgeführte Fällung des Harns mit Salzen der alkalischen Erden leidet zwar nicht an diesem Übelstand, wenigstens nicht in dem Masse, wie das Verfahren von Mac Munn, ist aber mit anderen Mängeln behaftet, so dass auch dieses Verfahren dem von Garrod namentlich in bezug auf die Empfindlichkeit weit nachsteht.

Salkowski fällte Sulfonalharn mit Chlorbarium und Barytwasser, oder mit Chlorcalcium und Ammoniak oder Natriumcarbonat, Hammarsten erst mit Bariumacetat, dann durch abwechselnden Zusatz von Bariumacetat und Natriumcarbonat, bis der Niederschlag nicht mehr rot war; der Acetatniederschlag ent-

[1]) Garrod, a. a. O. 13. 603.

[2]) B. J. Stokvis, Handel. van het 7 Nederl. Natur- en Geneesk. Kongress 1899. 378; Jahresber. f. Tierch. 29. 841. 1899.

[3]) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Ch. 15. 294. 1891. — Hammarsten, Skandin. Archiv 3. 333. 1892.

Digitized by Google

hielt den meisten Farbstoff. Die Niederschläge wurden erst mit Alkohol gewaschen und darauf mit säurehaltigem Alkohol ausgezogen (von Salkowski in der Wärme). Hammarsten führte den im alkoholischen Auszug enthaltenen Farbstoff in Chloroform über.

Beide Forscher haben so Hämatoporphyrin nachgewiesen, aber der saure alkoholische Auszug der Barytniederschläge enthält neben dem Hämatoporphyrin noch viel braunen Farbstoff (Urobilin), welcher den spektroskopischen Nachweis des Hämatoporphyrins in hohem Grade erschweren kann; aus Fieberharn, der bei der Untersuchung nach dem Verfahren von Garrod reichlich Hämatoporphyrin enthielt, hat Huppert mittels der Barytmethode nicht einmal Spuren davon gewinnen können. In der Unzulänglichkeit des Verfahrens von Salkowski ist es begründet, dass Nakarai bei der Untersuchung des Harns von 144 Kranken das Hämatoporphyrin nur bei 10 nachweisen konnte. Aus dem obigen Gemisch lässt sich das Hämatoporphyrin durch das Phosphatverfahren noch einigermassen rein gewinnen; das ist aber umständlich und überflüssig. Hedin[1]) zog den Farbstoff aus seiner schwach salzsauren Lösung in verdünntem Alkohol mit Äther aus. Viel besser gelangt man nach Hupperts Erfahrung mit der Barytmethode zum Ziele, wenn man den Barytniederschlag so oft mit Wasser auskocht, bis die Flüssigkeit nur noch schwach gelb gefärbt ist, und ihn dann längere Zeit auf dem Wasserbade mit verdünntem Natriumcarbonat digeriert. Der rötlichbraune alkalische Auszug zeigt dann bei hinlänglicher Konzentration das alkalische Spektrum, auch bei Fieberharnen, welche bei weitem nicht so viel Hämatoporphyrin enthalten als Sulfonalharne. Dem Abdampfungsrückstand der alkalischen Lösung lässt sich das Hämatoporphyrin durch schwefelsäurehaltigen Alkohol entziehen.

b) Sättigt man einen Harn mit Chlorammon, so fällt nach Hopkins[2]) neben dem Ammonurat auch Hämatoporphyrin aus, aber wenig Urobilin; Ammonsulfat fällt dagegen das Hämatoporphyrin, namentlich aus angesäuertem Harn, sehr mangelhaft, das Urobilin aber vollständig. Die Fällung mit Chlorammon ist zwar weniger geeignet zum Nachweis des Hämatoporphyrins, aber das verschiedene Verhalten der beiden Farbstoffe zu den angeführten Ammonsalzen gibt einen einfachen Beweis dafür an die Hand, dass das pathologische Urobilin von Mac Munn kein einheitlicher Körper ist, sondern ein Gemisch von Hämatoporphyrin und Urobilin darstellt.

c) Aus dem Dialysat von Sulfonalharn, wie aus dem Harn selbst kann man nach Stokvis auch durch wiederholtes Fällen mit (3—4 Volumen absolutem) Alkohol das Hämatoporphyrin darstellen. Der äusserst geringe, feinflockige Niederschlag löst sich zum grössten Teil in Wasser, der Rest nahezu ganz in Lauge. — Aus dem Abdampfungsrückstand von Sulfonalharn nimmt nach Salkowski[3]) Alkohol nur Urobilin auf, aus dem mit Alkohol gewaschenen Rückstand Wasser Hämatoporphyrin-Alkali.

d) Nebelthau[4]) säuerte 100 ccm Harn mit 5 ccm Eisessig an. Nach zweitägigem Stehen schied sich Hämatoporphyrin als Niederschlag aus.

II. Nachweis durch Extraktion.

Mehrfach gelang es nicht, dem nativen oder dem mit Säure versetzten Harn durch die verschiedensten Lösungsmittel (Äther, Essigäther, Amylalkohol, Chloroform, Benzol, Petroläther) Hämatoporphyrin

---

[1]) Nakarai, Archiv f. klin. Med. 58. 170. 1897. — S. G. Hedin, Hygiea 1892; Jahresber. f. Tierch. 1892. 532.

[2]) Hopkins, Guys Hosp. Reports 50. 357. 1893.

[3]) Stokvis, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1889. 2. 414; Jahresber. f. Tierch. 1893. 593. — Salkowski, a. a. O. 295.

[4]) E. Nebelthau, Zeitschr. f. physiol. Ch. 27. 324. 1899.

Digitized by Google

zu entziehen (Stokvis, Salkowski, Hammarsten). Dagegen haben Binnendijk und Stokvis aus dem mit Phosphorsäure versetzten Harn mit Äther Hämatoporphyrin ausschütteln können und haben sich dieses Verfahrens zum Aufsuchen des Farbstoffs im Harn bedient. Nach Garrod nehmen Chloroform sowie Essigäther nur sehr geringe Mengen Hämatoporphyrin aus Harn auf, viel weniger als der von Mac Munn und später von Riva und Zoja für diesen Zweck empfohlene Amylalkohol. Saillet und Parmentier[1]) benutzen aber trotzdem die Ausschüttelung mit Essigäther. Auch den Tetrachlorkohlenstoff hat Garrod als ein gutes Extraktionsmittel des Hämatoporphyrins aus Lösungen desselben befunden.

1. Verfahren nach Riva und Zoja[2]).

Schüttelt man Harn mit Amylalkohol, so geht neben Urobilin und Uroerythrin auch das Hämatoporphyrin in Lösung. Es wird daran erkannt, dass der Auszug das alkalische Hämatoporphyrin-Spektrum zeigt. Von den Begleitern lässt sich das Hämatoporphyrin durch Fällen desselben als Zinkverbindung trennen. Das Verfahren ist leicht auszuführen, die Extraktion ist aber unvollständig, kleine Mengen des Farbstoffes können sich dem Nachweis entziehen, und darum ist das Verfahren nicht so vorteilhaft wie das von Garrod.

Der Versuch gelingt nur dann, wenn reiner Amylalkohol verwendet wird. Käuflicher Amylalkohol verhält sich sehr ungleich und ist oft unwirksam (durch fraktionierte Destillation gereinigter Alkohol vom Siedepunkte 130—131° genügt dazu).

Es werden 400—500 ccm Harn in einem Cylinder mit 50—60 ccm Amylalkohol sanft geschüttelt, wonach sich der Alkohol in Form einer sehr beständigen Emulsion auf der Oberfläche ansammelt. Bei längerem Stehen und zeitweiligem Rütteln des Gefässes trennt sich von der Emulsion eine kleine Schicht klarer Lösung, welche sich mit einer Pipette abheben lässt. Schneller vollzieht sich die Scheidung nach Hupperts Erfahrung, wenn man die Emulsion auf ein mit Amylalkohol befeuchtetes Filter bringt. Der im Filtrat auf einer wässerigen Lösung schwimmende, gelb gefärbte Alkohol wird zu den Versuchen benützt. Den Harn vorher anzusäuern, ist überflüssig; doch befördert nach Garrod[3]) Zusatz einiger Tropfen Essigsäure zum Harn die Extraktion, ohne das Spektrum des Auszugs zu beeinflussen.

Vor dem Spektroskop zeigt der Auszug das alkalische Spektrum, wie Garrod bestätigt, in vielen Fällen mit der grössten Deutlichkeit. Die Gegenwart der anderen Farbstoffe, deren Spektren schon vor F beginnen und sich weit nach Rot hin erstrecken können, beeinträchtigt selten wesentlich die Wahr-

[1]) Stokvis, Tijdschr., a. a. O. 2. 414. — Salkowski, a. a. O. 291. — Hammarsten, a. a. O. 322 u. 334. — Stokvis, a. a. O. 409. — Garrod, a. a. O. 15. 115. — Mac Munn, Journ. of Physiol. 6. 37. 1885. — H. Parmentier, Thèse de Paris 1905. 160.

[2]) A. Riva und L. Zoja, Gaz. med. di Torino, Anno 43. Nr. 22. 1892. — Zoja, Archives ital. de Biol. 19. fasc. 3. 1893; Archivio italiano di clinica medica, Anno 32. 1893.

[3]) Garrod, a. a. O. 15. 113.

Digitized by Google

nehmung des Spektrums und die Ortsbestimmung seiner Streifen, doch kann es geschehen, dass man von dem Spektrum nur den Streifen in Rot wahrnimmt. Zur weiteren Sicherung des Befundes empfiehlt Garrod den Zusatz einer sehr kleinen Menge Salzsäure zu dem Amylalkohol; es tritt dann das an den zwei Streifen in Rot kenntliche neutrale Spektrum auf. — Setzt man dem Auszug eine ammoniakalische Lösung von Chlorzink in Alkohol zu, so erscheint neben dem Spektrum des Urobilinzink das metallische Spektrum.

Ist der Auszug so arm an Hämatoporphyrin, dass sein Spektrum nicht zu sehen ist, so soll man ihn nach Riva und Zoja mit etwas starkem Ammoniak schütteln. Die kleine, etwa 1 ccm betragende Menge wässeriger Flüssigkeit, die sich am Boden des Reagenzglases absetzt, enthält alles Hämatoporphyrin. Die braune Lösung zeigt das alkalische Spektrum und auf Zusatz einer Lösung von Chlorzink nach längerer Zeit das metallische.

An dem Auszug von Harn, der mit Salzsäure oder Essigsäure versetzt war, beobachteten Riva und Zoja auch das fünfbandige alkalische Spektrum, Salkowski bei Harn nach Zusatz von Salzsäure auch einmal das saure. Garrod erhielt wiederholt mit dem Harn direkt auch das fünfbandige alkalische Spektrum.

Zur Trennung des Hämatoporphyrins von den anderen Farbstoffen als Zinkverbindung fügt man nach Zoja [1]) dem amylalkoholischen Auszug auf 15—20 ccm 2—3 Tropfen einer Mischung von gleichen Teilen Ammoniak und absolutem Alkohol zu, klärt, wenn nötig, durch die erforderliche kleine Menge Alkohol und setzt dann wenige Tropfen einer Lösung von 1 g Chlorzink in 100 ccm absolutem Alkohol zu. Statt dessen kann man auch sogleich die von Nencki und Rotschy zum Nachweis von Urobilin empfohlene Lösung von 1 g Chlorzink in 100 g stark ammoniakalischem Alkohol verwenden. Huppert fand, dass es nicht nötig ist, mit so grosser Vorsicht zu verfahren. Die Zinkverbindung scheidet sich ganz allmählich in rötlichbraunen, im durchfallenden Licht granatroten Flocken ab.

Durch Waschen des Niederschlages mit Amylakohol, mit Alkohol und mit Äther lässt sich das beigemengte Urobilin vollständig entfernen. Der im Alkohol suspendierte Niederschlag bietet das metallische Spektrum dar, ebenso seine Lösung in Alkalihydrat oder -Carbonat. Die schön violettrote Lösung in säurehaltigem Alkohol besitzt nach guter Reinigung des Niederschlages keine Spur von Fluorescenz und zeigt das saure Spektrum; beim Übersättigen der Lösung mit Alkali erscheint das alkalische Spektrum.

Zeigt die Lösung des Zinkniederschlages (oder einer Metallverbindung überhaupt) noch den Urobilinstreifen, so kann man diesen beseitigen, wenn man die Lösung stark ansäuert und mit einigen Tropfen rauchender Salpetersäure gelinde erwärmt (Zoja).

2. a) Verfahren von Saillet.

Saillet [2]) schüttelt den Harn, nachdem er ihn auf 100 ccm mit 10 Tropfen Eisessig versetzt hat, mit dem gleichen Volumen Essigäther.

Bei normal saurem Harn ist der Zusatz einer Säure unnötig, aber er beschleunigt die Extraktion und macht sie vollständiger. Man muss stark ansäuern, aber mit Essigsäure und nicht mit einer Mineralsäure. Das Volumen des Essigäthers soll mindestens gleich dem des Harns sein, weil sich dann (bei normalem Harn) keine Emulsion bildet. Wenn man eine grosse Menge Harn verarbeitet, so behandelt man ihn in einzelnen Portionen mit demselben Essigäther und ergänzt nur sein Volumen um den Teil, der vom Harn aufgenommen wird.

[1]) Zoja, Archivio ital., a. a. O.
[2]) Saillet, Revue de méd. **16.** 543.

Digitized by Google

Der Essigäther nimmt orangeroten Farbstoff auf und der Auszug weist dann das neutrale Hämatoporphyrin-Spektrum auf, auch dann, wenn ganz frischer Harn in rotem Licht dieser Behandlung unterzogen wird. Neben dem präformierten Hämatoporphyrin enthält der Auszug noch dreimal so viel in der Form eines Chromogens, das im Sonnenlicht zu Hämatoporphyrin wird. Daneben hat der Äther dem Harn noch das Chromogen des Urobilins und andere Substanzen entzogen.

Beim Schütteln des Essigätherauszuges mit 5%iger Salzsäure geht das Hämatoporphyrin, und wenn es vorhanden ist, auch Urobilin in diese über; die saure malvenrote Flüssigkeit zeigt das saure Spektrum des Hämatoporphyrins. Man neutralisiert mit Ammoniak, säuert mit Essigsäure an und schüttelt mit Schwefeläther, welcher das Hämatoporphyrin aufnimmt und das Urobilin zurücklässt. Schüttelt man den Äthyläther darauf mit wenig 5%iger Salzsäure, so erhält man eine schöne, rubinrote Lösung, die man nahezu mit Ammoniak neutralisiert, wobei das Hämatoporphyrin ausfällt. Die Flüssigkeit wird braungelb mit violettem Reflex, und das Hämatoporphyrin setzt sich in einigen Stunden als amorphes, braunes Pulver ab. Es wird auf einem Filter mit Wasser, und wenn nötig, noch mit Chloroform gewaschen.

b) Nach Parmentier. Um Hämatoporphyrin aus dem Harn zu erhalten, wird der Harn mehrmals mit Essigäther ausgezogen. Nach dem Abdampfen des Essigäthers wird der Rückstand in Eisessig gelöst. Beim Abdampfen der Essigsäure erhält man kleine Krystalle, welche man in Chloroform oder Äthylacetat auflöst. In saurer Lösung gibt das so erhaltene Hämatoporphyrin 3 Absorptionsstreifen (λ 599,5—588, λ 576—565, λ 555,8—539), in alkalischer Lösung 4 Streifen (λ 625—614,5, λ 597—558, λ 541—526,5, λ 512—490), in neutraler Lösung 5 Streifen (λ 626—620, λ 617—612, λ 578—552,5, λ 541—520,5, λ 512—482) (Parmentier)[1]).

D. Darstellung. Die Methoden zum Nachweis des Hämatoporphyrins laufen alle auf die Darstellung des Farbstoffs hinaus. Sie werden aber nur soweit fortgeführt, bis man den Farbstoff an seinem Spektrum erkennt und man verzichtet auf eine weitere Reinigung desselben. Einen Versuch zur Gewinnung des reinen Farbstoffes selbst hat Hammarsten[2]) ausgeführt.

Der Barytniederschlag (C. I. 2., S. 1339) aus einem Sulfonalharn wurde mit angesäuertem Alkohol ausgezogen, der Auszug mit Chloroform und Wasser behandelt, wobei der Farbstoff in das Chloroform überging. Der beim freiwilligen Verdunsten des Chloroforms bleibende Rückstand löste sich nur teilweise in kaltem Alkohol; der darin unlösliche Anteil war in dünnerer Schicht rotbraun, in dickerer Schicht braun mit einem Stich ins Violette. Er war in Wasser ganz unlöslich, löste sich in Alkali in der Kälte nur schwer, besser in der Wärme, aber unter Zersetzung. In sehr verdünnter Salzsäure oder Schwefelsäure war er unlöslich, in Salzsäure von 20—25% löste er sich dagegen mit schön blauroter Farbe. In heissem Alkohol löste er sich leicht, und beim Erkalten schieden sich Nadeln vom Aussehen des salzsauren Hämatoporphyrins von Nencki und Sieber ab; in Chloroform, Aceton, sowie Essigäther löste sich der Körper äusserst leicht und beim Verdunsten krystallisierte er auch hier. Die saure, die alkalische und die

[1]) H. Parmentier, Thèse de Paris 1905. 160.
[2]) Hammarsten, Skandin. Archiv 3. 325.

zinkhaltige Lösung besassen die Farbe solcher Hämatoporphyrinlösungen und boten die entsprechenden typischen Spektren dar, die Lösung in Alkohol aber das fünfbandige alkalische Spektrum. Das Auftreten dieses Spektrums macht es wahrscheinlich, dass der Körper die Verbindung des Hämatoporphyrins mit einer Säure darstellte; da die Löslichkeitsverhältnisse aber andere waren, als die des salzsauren Hämatoporphyrins, so kann diese Säure nicht Salzsäure gewesen sein.

Eine Substanz, welche zwar nicht krystallisierte, aber nach den Löslichkeitsverhältnissen mit der von Hammarsten dargestellten identisch zu sein schien, erhielt Hedin[1]) gleichfalls aus einem Barytniederschlag. Der mit salzsäurehaltigem Alkohol bereitete Auszug wurde mit Wasser verdünnt und nach Zusatz von Ammoniak bis zur schwach sauren Reaktion mit Äther geschüttelt, welcher den Farbstoff aufnahm. Salzsäure entzog den Farbstoff wieder dem Äther, und aus dieser salzsauren Lösung schied sich ein Teil des Farbstoffes allmählich in braunen Flocken aus.

Trennung des Hämatoporphyrins vom Urobilin. Das Hämatoporphyrin lässt sich noch am vollkommensten abscheiden durch Barytsalze in alkalischer Lösung; von dem Urobilin bleibt ein um so grösserer Teil in Lösung, je verdünnter die Lösung war. Ob sich aber der Hämatoporphyrinniederschlag vollständig vom Urobilinbarium trennen lässt, ist noch fraglich. Andere in Vorschlag gebrachte Methoden verbürgen kein besseres Resultat.

Es sind folgende:

1. Sättigen des Harns mit Chlorammon oder mit Ammonsulfat; durch Chlorammon wird vorwiegend das Hämatoporphyrin gefällt, durch Ammonsulfat das Urobilin (Hopkins, C. I. 2. b. S. 1339).

2. Die Darstellungsweisen von Garrod (C. I. 1. S. 1335) und von Riva und Zoja (C. II. S. 1340).

3. Schütteln einer sauren wässerigen Lösung beider Farbstoffe mit Chloroform, wobei das Urobilin in das Chloroform übergeht, das Hämatoporphyrin in der wässerigen Lösung bleibt (C. I. S. 1336).

4. Schütteln der Lösung beider Farbstoffe in saurem Essigäther mit Wasser führt das Urobilin in das Wasser über; der essigsauren Lösung entzieht Schwefeläther oder Essigäther das Hämatoporphyrin (Saillet C. II. 2. S. 1341).

5. Zerstören des Urobilins durch Salpetersäure (Zoja, C. II. 1. S. 1341).

E. Bestimmung des Hämatoporphyrins. Spektrophotometrisch nach Saillet[2]).

A. Prinzip. Saillet hat ermittelt, dass der dunkle Streifen des sauren Hämatoporphyrinspektrums wie beim Urobilin in 15 mm dicker

[1]) Hedin, Hygiea 1892; Jahresber. f. Tierch. 1892. 532.
[2]) Saillet, Revue de méd. 16. 543 u. 552. 1896; 17. 125. 1897.

Digitized by Google

Schicht der Lösung gerade noch sichtbar ist, wenn die Lösung in 22 ccm 1 mg Hämatoporphyrin enthält (oder bei 10 mm dicker Schicht 6,82 mg in 100 ccm). Ein abgemessenes Volumen der Lösung wird durch zugemessene Mengen Wasser bis zu diesem Grade verdünnt und aus der Grösse der Verdünnung der Gehalt der Lösung an Hämatoporphyrin berechnet.

Das Verfahren ist nicht genau, da das minimale Spektrum an und für sich kein sicheres Mass darstellt und die Sichtbarkeit des Streifens ausserdem noch abhängt von der Stärke der Lichtquelle und anderen Umständen.

B. Ausführung. Es werden 100—200 ccm Harn mit 10 Tropfen Eisessig auf 100 ccm versetzt und mit dem gleichen Volumen Essigäther ausgeschüttelt. Der vom Harn getrennte Äther wird darauf mit einem kleinen Volumen 5%iger Salzsäure geschüttelt und die so erhaltene saure Hämatoporphyrinlösung zur Bestimmung verwendet.

Wenn man dem Harn alles Hämatoporphyrin entziehen will, so muss das Ausschütteln des Harns mit frischem Essigäther in gleicher Menge wiederholt werden. Da ferner nach Saillet der frisch entleerte Harn nur $\frac{1}{4}$ des Farbstoffes als solchen, $\frac{3}{4}$ als Chromogen enthält, und dieses bei der Belichtung der ätherischen Lösung in den Farbstoff übergeht, so muss der ätherische Auszug der Einwirkung des Sonnenlichtes ausgesetzt und so lange mit der verdünnten Salzsäure behandelt werden, als diese noch Farbstoff aufnimmt.

V. Urorubrohämatin und Urofuscohämatin.

Im Harn eines Leprosen hat Baumstark[1]) zwei eigentümliche Farbstoffe aufgefunden, Urorubrohämatin und Urofuscohämatin. Der Harn war anfangs tief dunkelrot und wurde allmählich braunrot, gegen das letale Ende rein dunkelbraun, fast schwarz. Der rote Harn hatte ein Spektrum wie das des Sauerstoffhämoglobins oder wie das metallische Hämatoporphyrin-Spektrum.

Der Harn wurde der Dialyse unterworfen, wobei eine gelbliche, wie normaler Harn gefärbte Flüssigkeit mit den Salzen durch die Membran ging, während ein brauner Schlamm zurückblieb. Dieser Schlamm löste sich leicht in Natronlauge und liess auf Säurezusatz das Urofuscohämatin fallen, während ein prachtvoll magentaroter Farbstoff, das Urorubrohämatin, in Lösung blieb. Der letztere schied sich aus, als die rote Lösung der Dialyse unterworfen wurde. Die Ausbeute betrug in 12 Tagen gegen 2 g beider Farbstoffe.

Baumstark erteilte dem Urorubrohämatin die Formel $C_{68}H_{94}N_8Fe_2O_{30}$, dem Urorufuscohämatin die Formel $C_{68}H_{106}N_8O_{26}$. Nach Hupperts Berechnung stimmt das Ergebnis der Analyse sehr gut zu den Formeln $C_{36}H_{50}N_4FeO_{16}$ und $C_{34}H_{54}N_4O_{13}$, weniger gut, aber noch befriedigend, zu $C_{32}H_{45}N_4FeO_{14}$ und $C_{16}H_{26}N_2O_6$. Die letzten zwei Formeln gestatten einen bequemen Vergleich mit denen des Hämatins und des Hämatoporphyrins.

Das Urorubrohämatin bildet frisch gefällt dunkelbraune Flocken, über Schwefelsäure getrocknet eine blauschwarze Masse. Es ist unlöslich in Wasser, Alkohol und Äther, Chloroform, Benzol, Schwefelkohlenstoff, Kochsalzlösung. In

[1]) Baumstark, Berichte d. chem. Gesellsch. 7. 1170; Pflügers Archiv 9. 568. 1874.

Digitized by Google

Alkalien (auch Ammoniak) löst es sich mit braunroter Farbe, die beim Verdünnen schön granatrot wird; Säuren fällen den Farbstoff nicht, die Lösung wird aber bläulichrot; durch Dialyse fällt der Farbstoff. Beim Eindampfen seiner sauren, wie der alkalischen Lösung bleibt der Farbstoff unverändert zurück. In phosphorsauren und kohlensauren Alkalien löst sich der Farbstoff mit magentaroter Farbe; Säuren fällen nicht und ändern die Farbe nicht. Aus den alkalischen Lösungen wird der Farbstoff durch Kalk- und Barytsalze nicht gefällt. Er löst sich in säurehaltigem Alkohol, sehr schwierig in verdünnter Schwefelsäure, mit violetter Farbe. Angesäuerte Kochsalzlösung nimmt ihn mit roter Farbe auf. Keine der Lösungen zeigt Dichroismus, auch nicht auf Zusatz von Zinksalz.

Die saure Lösung zeigt ein schmales Absorptionsband, vor D rechts an D grenzend, und ein breites hinter D, wie saure Hämatoporphyrinlösung. Beim Verdünnen verschwindet das schmale Band zuerst. — Die alkalische Lösung zeigt ein schmales Band rechts von D, ein zweites solches auf E, ein breites rechts von F nahe dieser Linie und eines rechts von G, ohne dass das Blau zwischen den letzteren absorbiert wird; alle vier Bänder nehmen beim Verdünnen gleichmässig ab.

Das Urofuscohämatin stellt frisch gefällt dunkelbraune Flocken, trocken eine pechglänzende schwarze Masse dar, ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Äther, Chloroform, Benzol, Säuren, neutraler und saurer Kochsalzlösung. Es löst sich in Alkalien (auch Ammoniak) mit brauner Farbe, die sich beim Verdünnen nicht ändert; Säuren, sowie Kalk- und Barytsalze, fällen aus diesen Lösungen den Farbstoff sofort in braunen Flocken. Phosphorsaure und kohlensaure Alkalien, sowie säurehaltiger Alkohol lösen den Farbstoff mit brauner Farbe. Die Lösungen ändern ihre Farbe beim Verdünnen nicht; sie zeigen keinen Dichroismus, auch nicht auf Zusatz von Zinksalz. Im Spektrum erscheint ein Schatten zwischen D und E und ein zweiter vor F, der nur mit Schwierigkeit zu erkennen ist.

Beide Farbstoffe können mit konzentrierter Natronlauge oder Salzsäure gekocht werden, ohne sich zu verändern. Beide liefern bei der trockenen Destillation ein Destillat, welches, wie die von Hoppe-Seyler untersuchten Hämatin-Derivate, sehr schön die Pyrrol-Reaktionen zeigt. Häminkrystalle lassen sich aus den Farbstoffen nicht darstellen.

VI. Gallenfarbstoffe.

Man unterscheidet von den Gallenfarbstoffen Bilirubin, Biliverdin, Bilifuscin und Biliprasin; die drei letztgenannten sind Oxydationsprodukte des Bilirubins. An diese schliessen sich als weitere farbige Oxydationsprodukte derselben Cholecyanin (Bilicyanin), Choletelin und ein von Stokvis beschriebener reduzierbarer Körper an.

A. Vorkommen. Gallenfarbstoff tritt bei längere Zeit anhaltender Gallenstauung im Harn auf. Von den verschiedenen Farbstoffen ist mit voller Sicherheit in frischem ikterischen Harn nur das Bilirubin aufgefunden worden; dass auch Bilifuscin, Biliprasin und Biliverdin in frisch entleertem Harn vorkommen, ist wenigstens nicht die Regel, aber sie bilden sich leicht beim Stehen des Harns an der Luft. Auch in den Uratsedimenten kann sich der Gallenfarbstoff finden, selbst die ganze im Harn enthaltene Menge. Das Spektrum des Cholecyanins hat Heynsius einige Male an ikterischem Harn beobachtet. Auch das Choletelin glauben Heynsius und Campbell als häufigen Bestandteil des ikterischen Harns bezeichnen zu dürfen, während andere im ikterischen Harn neben dem Gallenfarbstoff oder an Stelle desselben

Digitized by Google

das dem Choletelin spektroskopisch zum Verwechseln ähnliche Urobilin nachgewiesen haben. Der reduzierbare Stoff von Stokvis (B. g) findet sich in geringer Menge bei Ikterus, bei fieberhaften Krankheiten und bei längere Zeit hungernden Tieren, sowie nach Zeehuisen[1]) noch längere Zeit nach Ablauf des katarrhalischen Ikterus. — Die Färbung des ikterischen Harns entspricht nicht seinem Gehalt an Bilirubin; es können lichte Harne reich, dunkle arm daran sein; in der Tagesmenge Harn fand Schwanda 2—15 mg in 100 ccm.

Im normalen menschlichen Harn kommt der Gallenfarbstoff nicht vor, dagegen oft im Harn gesunder und kranker Hunde. — Der Hundeharn ist normalerweise gallenfarbstofffrei. Gallenfarbstoff im Hundeharn ist aber nicht pathognostisch für Ikterus (Schreck)[2]).

Die Harnsäure, welche sich aus ikterischem Harn abgeschieden hat, ist nach Garrod[3]) braun, aber in verschiedenen Nuancen, je nachdem der Harn mehr Bilirubin oder mehr Biliverdin enthält. Die Uratsedimente aus bilirubinreichem Harn sind rötlichbraun und die einzelnen Krystalle ungewöhnlich reich und warm orange; die Sedimente aus biliverdinreichem Harn sind lederbraun und die einzelnen Krystalle eigentümlich grünlich. Der Farbstoff lässt sich ihnen durch die passenden Lösungsmittel entziehen. — Das „Hämatoidin" in Harnsedimenten wird in vielen Fällen Bilirubin gewesen sein.

B. Eigenschaften. a) Bilirubin $C_{32}H_{36}N_4O_6$.

Das Bilirubin wurde zuerst von Staedeler genauer beschrieben, dann von Maly und vor allem von Küster genauer untersucht.

1. Das Bilirubin ist amorph und krystallisiert erhalten worden. Das krystallisierte ist dunkelrot, das amorphe ist orangerot. Aus Dimethylanilin krystallisiert es in schiefen, breiten Säulen oder kegelförmig; aus Chloroform können Nadeln oder Wetzsteinformen entstehen. Das Bilirubin ist dem Hämatoporphyrin isomer. Es löst sich nicht in Wasser, spurenweise in Äther, wenig mehr in gewöhnlichem Alkohol, in heissem Amylalkohol und in Glycerin mit gelber Farbe, leicht in Chloroform mit gelber bis dunkel bräunlich roter Farbe und in Dimethylanilin, ferner wenig in Schwefelkohlenstoff, in Benzol, Nitrobenzol, Äthylenbromid, in Phenol, in Terpentinöl und in fetten Ölen. Chloroform nimmt das Bilirubin beim Schütteln auch aus solchen Flüssigkeiten auf, in welchen es als solches enthalten ist. Aus der Chloroformlösung sowie aus der Lösung in Dimethylanilin, in Schwefelkohlenstoff und in Benzol scheidet es sich beim Verdunsten krystallinisch ab.

2. Es löst sich in den Alkalihydraten, Alkalicarbonaten und den alkalisch reagierenden Phosphaten, indem es mit den Alkalien salzartige Verbindungen bildet. Diese lösen sich in Wasser leicht mit gelber

[1]) Heynsius und Campbell, Pflügers Archiv 4. 545. 1871. — Stokvis, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1873. 3. — H. Zeehuisen, Zeitschr. f. klin. Med. 27. 190. 1895.

[2]) H. Schreck, Monatshefte f. prakt. Tierheilk. 21. 243. 1909.

[3]) Arch. E. Garrod, Journ. of Physiol. 17. 441. 1895; The Journ. of Pathol. and Bacteriol. 3. 105. 1896.

Digitized by Google

bis tief orangeroter Farbe, in Alkalilaugen aber weniger als in Wasser; die alkalischen Lösungen färben sich an der Luft unter Oxydation leicht braun und grün. Durch Schütteln mit verdünnter Natronlauge wird das Bilirubin der Chloroformlösung entzogen. Durch Salze der alkalischen Erden und der schweren Metalle (Blei, Silber, Zink), nach Camerer auch durch ammoniakalische Silberlösung, wird es aus seinen alkalischen Lösungen als salzartige Verbindung gefällt. Barytsalze schlagen es nach Fr. Müller vollständiger nieder als Kalksalze. Es fällt nach Méhu[1]) beim Sättigen seiner wässerigen Lösungen (Harn) mit Ammonsulfat aus, der Niederschlag löst sich wieder in Wasser.

Sättigen der Lösung mit Chlorammonium fällt den Farbstoff auch, aber nicht so vollständig wie Ammonsulfat (Huppert).

3. Säuren lösen das Bilirubin nicht und geben mit ihm keine Verbindungen.

4. Es entsteht nach Haycraft und Scofield durch Reduktion (durch Schwefelammon, in faulendem Harn) aus Biliverdin und Bilicyanin. Bei der alkalischen Harngärung kann es aber aus dem Harn verschwinden (Salkowski[2]) und ebenso, wenn ikterischer Harn unter Zusatz von Chloroform aufbewahrt wird (Huppert).

5. Das Spektrum des Bilirubins zeigt keinen Absorptionsstreifen.

Die Absorption nimmt nach Vierordt[3]) vom äussersten Rot gegen das violette Ende ununterbrochen zu; besonders schnell erfolgt diese Zunahme in E 26 F bis E 45 F und zwischen G 35 H und G 60 H ist sie 573 mal so stark als in A. Das Bilirubin absorbiert das Licht stärker, als einer der anderen Gallenfarbstoffe.

Die Absorptionsstreifen der Galle gehören keinem der gewöhnlichen Gallenfarbstoffe, sondern dem Cholecyanin an.

6. In alkalischer Lösung verwandelt sich das Bilirubin unter Absorption von Sauerstoff leicht in einen bläulichgrünen, gewöhnlich als Biliverdin bezeichneten Farbstoff (Gmelin). In gleicher Weise wird das Bilirubin bei der Digestion mit Alkohol, namentlich mit Äther, oxydiert, sowie nach Thudichum auch durch Fehlingsche Flüssigkeit. Bei der Digestion mit ammoniakalischer Chlorzinklösung an der Luft geht es in Cholecyanin über (Stokvis). Quecksilberchlorid führt das Bilirubin nach Ad. Schmidt[4]) in Biliverdin über.

---

[1]) W. Camerer, Zeitschr. f. Biol. 35. 212. 1897. — Méhu, Journ. de pharm. et de chim. [4] 28. 164. 1878.

[2]) J. B. Haycraft und H. Scofield, Zentralbl. f. Physiol. 1889. 222; Zeitschr. f. physiol. Ch. 14. 173. 1889. — Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Ch. 12. 227. 1888.

[3]) Vierordt, Zeitschr. f. Biol. 10. 42 u. 52. 1874.

[4]) F. Tiedemann und L. Gmelin, Die Verdauung nach Versuchen. Leipzig und Heidelberg 1826. 1. 80. — Stokvis, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1872. 784. — A. Schmidt, Verhandl. d. XIII. Kongr. f. inn. Med. 1895. 320.

Digitized by Google

7. Mit Brom gibt das Bilirubin farbige Substitutionsprodukte; auch Chlor substituiert Wasserstoff in ihm (Thudichum, Maly). Unter Einwirkung von alkoholischer Jodlösung wird Bilirubin in eine grüne Verbindung verwandelt. Jolles spricht diese grüne Verbindung als Biliverdin an (s. S. 1367). Nach Thudichum und Munk[1]) handelt es sich aber auch hier um ein Substitutionsprodukt des Bilirubin. Diese Auffassung ist trotz der Einwände von Jolles[2]) wahrscheinlich die richtige.

8. Eine Bilirubinlösung färbt sich bei allmählichem Zufügen von salpetrige Säure enthaltender Salpetersäure erst grün, dann blau, dann violett, dann rot und zwar alles dieses bei hinreichender Säuremenge innerhalb weniger Sekunden. Hierauf tritt in einigen Stunden oder, bei grösserem Säureüberschuss, in einigen Minuten Zerstörung der roten Farbe ein, worauf die Flüssigkeit gelb erscheint (L. Gmelin).

Giesst man die Bilirubinlösung auf die Salpetersäure, ohne dass sich die Flüssigkeiten mischen, so zeigen sich diese Farben gleichzeitig schichtenweise übereinander, die grüne Schicht zu oberst. Bei dieser Oxydation entstehen nach dem als Biliverdin betrachteten Farbstoff wesentlich Cholecyanin und Choletelin. — Reine Salpetersäure gibt mit einer Lösung des reinen Farbstoffes diese Reaktion nicht.

Durch Chlor lässt sich eine ähnliche Farbenveränderung bewerkstelligen, wie durch die Salpetersäure, jedoch sind die Farben bei weitem weniger lebhaft; die grüne Färbung geht, ohne erst ein deutliches Blau zu zeigen, in die blassrote über und etwas mehr Chlor bewirkt gänzliche Entfärbung nebst weisser Trübung (Gmelin). — Eine Lösung von Bilirubin zeigt auf Zusatz von Brom oder Jod denselben Farbenwechsel, wie er durch Salpetersäure hervorgerufen wird (Maly)[3]); es bilden sich dabei Brom- (Jod-) Substitutionsprodukte.

Eine Lösung von Gallenfarbstoff in Alkohol, Äther oder Chloroform wird nach Capranica[4]) auf vorsichtigen Zusatz einer schwachen alkoholischen Bromlösung nacheinander grün, indigoblau, violett, gelbrot und endlich farblos. Der grüne Stoff zeigt keinen Absorptionsstreifen, der blaue und der violette dagegen einen Streifen in Rot, der gelbrote einen Streifen in Blau. Schüttelt man die ätherische Lösung, wenn sie grün oder blau geworden ist, mit Salzsäure, so nimmt diese den grünen Farbstoff auf. Die Grünfärbung ist noch wahrnehmbar, wenn der ursprüngliche Farbstoffgehalt nicht mehr als 1 : 200 000 beträgt. Aus der violetten Lösung nimmt Salzsäure nichts auf. Konzentrierte wässerige Lösungen von Chlorsäure oder Jodsäure ergeben dasselbe Resultat.

Eine Lösung von Bilirubin in Chloroform wird nach Capranica bei Abschluss von Luft im Lichte grün. Durchleiten von Sauerstoff hat auf die Farbenwandlung ebensowenig Einfluss wie Durchleiten von Stickstoff, Wasserstoff,

[1]) Thudichum, Journ. of the chem. Soc. [2] **13**. 389. 1875; Ann. d. Ch. **81**. 242. — Maly, Ann. d. Ch. **181**. 106. 1876. — A. Jolles, Wiener med. Wochenschr. 1894. Nr. 20 u. 21; Pflügers Archiv **57**. 1. 1894; Zeitschr. f. physiol. Ch. **27**. 83. 1899; Skandin. Archiv **10**. 338. 1900. — Thudichum, l. c. — J. Munk, Archiv f. Physiol. 1898. 361.

[2]) A. Jolles, Pflügers Archiv **75**. 446. 1899; Journ. f. prakt. Ch. **59**. 308. 1899.

[3]) Maly, Chem. Zentralbl. 1868. 487; Ann. d. Ch. **181**. 108.

[4]) Capranica, Moleschotts Unters. **13**. 190; Zeitschr. f. analyt. Ch. **22**. 626; Jahresber. f. Tierch. 1882. 302; Gaz. chim. ital. **11**. 430; Jahresber. f. Tierch. 1881. 312; Archiv ital. de Biol. **1**. 84; Virchow-Hirschs Jahresber. **1**. 122. 1882.

Digitized by Google

Kohlensäure oder Kohlenoxyd. Schwefelwasserstoff verhindert das Grünwerden der Bilirubinlösung im Licht.

Der bei der Einwirkung der Salpetersäure auf Bilirubin entstehende grüne Farbstoff zeigt nach Bogomoloff [1]) in alkoholischer Lösung keinen Absorptionsstreifen; auf weiteren Zusatz von rauchender Salpetersäure treten mit fortschreitender Farbenveränderung Streifen auf, von denen jedoch dahingestellt bleibt, ob sie ihren Ursprung dem Gallenfarbstoff oder den bei der Einwirkung der Salpetersäure auf den Alkohol entstehenden farbigen Lösungen verdanken.

9. Permanganat in saurer Lösung zerstört das Bilirubin und die übrigen Gallenfarbstoffe vollständig.

Von dieser Eigenschaft macht Modigliano [2]) Gebrauch zum Entfärben ikterischen Harns, um ihn für weitere Untersuchungen tauglich zu machen. Der Harn wird auf 1 ccm mit 2 Tropfen Salpetersäure oder Salzsäure (1,2 Dichte) und 2 Tropfen einer 4%igen Permanganatlösung erwärmt oder einige Minuten geschüttelt.

10. Chromsäure in essigsaurer Lösung oxydiert Bilirubin zu Hämatinsäure $C_8H_8O_5$ neben Bernsteinsäure und anderem.

11. Durch Destillation mit Zinkstaub entsteht Hämopyrrol wie beim Blutfarbstoff. Beim Kochen mit Lauge spaltet sich Ammoniak ab unter Bildung eines braunen, fäkalartig riechenden Stoffes (Unterschied gegenüber Hämatin und Hämatoporphyrin).

12. Versetzt man nach Ehrlich [3]) eine Lösung von Bilirubin in Chloroform mit 1—2 Volumen stark salzsäurehaltiger, 0,1%iger Diazobenzolsulfosäurelösung und mit soviel Alkohol, dass die Mischung homogen wird, so verändert die Lösung innerhalb einer Minute ihre gelbe Farbe in Rot. Auf tropfenweisen Zusatz von konzentrierter Salzsäure geht die Färbung durch Violett und Blauviolett in intensives prachtvolles Reinblau über, das unbegrenzte Zeit haltbar ist. Die stark saure Lösung ist rein blau, die stark alkalische grünblau, die neutrale oder schwach saure oder schwach alkalische rot. Das Produkt besitzt also verschiedene Färbung, ähnlich, aber nicht gleich dem Cholecyanin (B. e) 4.). Lässt man zur blauen Lösung vorsichtig Kalilauge fliessen, so ist eine untere grünblaue Zone von einer oberen rein blauen durch einen schmalen roten Streifen getrennt. Chloroform entzieht der blauen Lösung den Farbstoff teilweise mit grüner, der neutralen mit roter Färbung. Äther nimmt aus wässerigen Lösungen fast nichts auf. — Versetzt man stark ikterischen Harn mit der Diazobenzolsulfosäurelösung und stark mit HCl und lässt ihn, mit Steinsalz gesättigt, mehrere Tage stehen, so lässt sich das Produkt leicht abfiltrieren und mit Salzlauge waschen.

Biliverdin, Biliprasin, Bilifuscin und Urobilin geben diese Reaktion nicht.

Die saure blaue Lösung zeigt nach Krukenberg [4]) ein breites Band auf D, die annähernd neutrale violette Lösung eine von D bis F reichende Absorption. Im Spektrum der stark alkalischen grünen Lösung ist die linke Seite bis zur Mitte zwischen D und E absorbiert und das Rot nur schwach sichtbar.

Pröscher [5]) versuchte das Reaktionsprodukt zu charakterisieren. Zu einer Lösung von Bilirubin in Chloroform, die mit Alkohol so weit verdünnt wurde, dass das Bilirubin noch in Lösung blieb, und dann mit HCl stark angesäuert wurde,

[1]) Th. Bogomoloff, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 530. 1869.
[2]) Modigliano, Lo sperimentale; Chem. Zentralbl. 1. 393. 1889.
[3]) Ehrlich, Zentralbl. f. klin. Med. 4. 721. 1883.
[4]) Krukenberg, Chem. Untersuchungen 1. 77. 7886.
[5]) F. Pröscher, Zeitschr. f. physiol. Ch. **29**. 411. 1900; Zentralbl. f. inn. Med. **22**. 169. 1901.

Digitized by Google

kam allmählich Ehrlichs Diazophenonlösung (Amidoacetophenon in Alkohol gelöst, mit HCl angesäuert, mit der berechneten Menge Natriumnitrit versetzt). Nach Beendigung der Reaktion (ein Tropfen der Lösung darf auf Tüpfelpapier mit dem Reagens keine Blaufärbung mehr geben) wird in mit HCl stark angesäuertes Wasser eingetragen. Es scheidet sich dann das Chloroform ab, das den gesamten Azokörper mit blauer Farbe aufnimmt. Das Chloroform wird mit Wasser gewaschen, wobei die blaue Farbe in Rot umschlägt. Dieses rote Acetophenonazobilirubin wurde durch Verdunsten des Chloroforms in Krystallen gewonnen. Es handelt sich um ein Acetophenondisazobilirubin $C_{32}H_{34}N_4O_6(C_8H_7N_2O_2)$ (Orndorff und Tepple)[1]. Die neutrale Lösung ist rot, die alkalische grün, die salzsaure und schwefelsaure blau. Die genauere spektroskopische Untersuchung (durch Formánek) ergab, dass bei den verschiedenen Lösungen sich mehrere unscharfe Absorptionsstreifen zeigen, die, wenn man das ganze Verhalten bei verschiedenen Reaktionen berücksichtigt, sich doch zur Identifizierung dieses Farbstoffes eignen.

13. Durch Natriumamalgam wird das Bilirubin zu Hydrobilirubin reduziert (Maly[2]) und durch Kot- (Fäulnis-) Bakterien zu Urobilin (S. 1371). Leichter erfolgte diese Reduktion durch Jodwasserstoff und Jodphosphonium.

Nach der Schilderung, welche Maly von den Eigenschaften seines Hydrobilirubins gibt, gleicht es dem Urobilin so sehr, dass man beide Körper für identisch halten könnte. Maly schreibt dem Hydrobilirubin die Formel $C_{32}H_{40}N_4O_7$ zu. Gegen die Identität beider Farbstoffe sind aber von verschiedenen Seiten Zweifel erhoben worden, deren Erledigung darum mit Schwierigkeiten verbunden ist, weil man bei wiederholter Darstellung nicht immer das gleiche Produkt erhält. Die Reduktion kann entweder nicht vollendet sein, und man erhält dann Substanzen, welche noch Absorptionsstreifen im Rot und im Anfangsteil des Grün darbieten, oder die Lösung wird völlig entfärbt (Disqué, Le Nobel, Eichholz). Nach Gerhardt[3]) lässt sich der fremde Farbstoff durch Fällen mit Baryt beseitigen. — Das Hydrobilirubin mit dem einfachen Absorptionsstreifen des Urobilins unterscheidet sich von dem ihm sonst sehr ähnlichen Choletelin durch ein anderes Absorptionsverhältnis in verschiedenen Spektralregionen.

Wiederholt ist die Beobachtung gemacht worden, dass das farblose Reduktionsprodukt des Urobilins aus Harn (Urobilinweiss) beim Stehen an der Luft wieder zu Urobilin wird, das Hydrobilirubin mit den überzähligen Absorptionsstreifen unter denselben Umständen wieder zu demselben Hydrobilirubin.

b) Biliverdin $C_{32}H_{36}N_4O_8$.

1. Das Biliverdin ist amorph, schwarzgrün, löst sich nicht in Wasser, in Äther und in Chloroform, aber in Äthyl- und in Methylalkohol mit blaugrüner Farbe, welche durch eine Spur Säure feurig grün wird.

2. In ätzenden und kohlensauren Alkalien löst es sich mit saftgrüner bis braungrüner Farbe, wodurch es sich vom gleichfalls grünen Biliprasin unterscheidet, dessen Alkalisalze braun sind. Die Verbindungen des Biliverdins mit den alkalischen Erden und den Oxyden schwerer Metalle (Blei, Silber, Quecksilber, Kupfer) sind unlöslich.

[1]) W. R. Orndorff und J. E. Tepple, Amer. Chem. Journ. **33**. 215. 1905.

[2]) Maly, Ann. d. Ch. u. Pharm. **161**. 368. 1872; **163**. 77; Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1871. 849.

[3]) Disqué, Zeitschr. f. physiol. Ch. **2**. 259. 1878. — Le Nobel, Pflügers Archiv **40**. 517. 1887. — A. Eichholz, Journ. of Physiol. **14**. 334. 1893. — D. Gerhardt, Über Hydrobilinurie, Diss. Berlin 1889. 15.

Digitized by Google

3. Es löst sich in konzentrierter Essigsäure und in Salzsäure.

4. Ein Biliverdin, welches Vierordt[1]) photometrisch untersuchte, zeigte in alkalischer Lösung keine Absorptionsstreifen.

Die Absorption nahm vom roten zum violetten Ende ununterbrochen zu. Die alkoholische schwach angesäuerte Lösung von rein grünem Farbenton wies auch diese Zunahme der Absorption auf mit einer unbedeutenden Abnahme im Grün zwischen C 65 D und D 87 E; ausserdem zeigte sie ein besonders rechts schlecht begrenztes Absorptionsband in Rot (zwischen a und C 15 D).

5. Mit Salpetersäure gibt das Biliverdin dieselbe Farbenveränderung wie das Bilirubin. Brom substituiert nach Thudichum in ihm Wasserstoff unter Bildung einer gleichfalls grünen Verbindung. Durch Natriumamalgam wird es nach Maly zu Hydrobilirubin, nach Thudichum zu einem diesem ähnlichen Körper, durch die Fäulnis oder Schwefelammon nach Haycraft und Scofield[2]) zu Bilirubin reduziert.

6. Durch Einwirkung von Formalin auf Biliverdin entsteht Bilicyanin (Arnold)[3]).

Zink und Salzsäure reduziert nach Jolles[4]) auch das grüne, durch Salpetersäure erhaltene Oxydationsprodukt des Bilirubins.

c) Biliprasin $C_{32}H_{44}N_4O_{12}$. Das Biliprasin ist wahrscheinlich ein mit Fetten verunreinigtes Biliverdin (Niethammer)[5]).

Die Derivate des Biliverdin (Biliprasin, Bilifuscin, Bilicyanin und Choletelin) sind schlecht charakterisiert, nur das Bilicyanin zeichnet sich durch ein charakteristisches Spektrum aus.

1. Das Biliprasin ist amorph, grünlich schwarz. Es ist in Wasser, Äther und Chloroform unlöslich. Alkohol löst es mit rein grüner Farbe, die auf Zusatz von Ammoniak in Braun übergeht. (Unterschied von Biliverdin.)

2. In Alkalien löst sich das Biliprasin leicht auf, schwieriger in kohlensauren Alkalien. Die verdünnten Lösungen haben dieselbe Farbe, wie stark pigmentierter ikterischer Harn. (Auf Zusatz einer Säure geht die braune Farbe wieder in eine grüne über. Unterschied von Bilifuscin.)

3. Die alkoholische Lösung zeigt nach Mac Munn[6]) keine Absorptionsstreifen, die alkalische (in Natron) dagegen, wie Bilifuscin, ein Band zwischen C und D.

4. Eine weingeistige Lösung von Biliprasin zeigt mit Salpetersäure dieselbe Reaktion wie Bilirubin und Biliverdin, nur das Blau ist sehr zurücktretend und undeutlich. Auf diese Reaktion ist jedoch nichts zu geben, weil man die gleichen Farben auch mit Alkohol allein erhält.

d) Bilifuscin $C_{32}H_{40}N_4O_8$.

1. Dasselbe ist gepulvert dunkelbraun, löst sich nicht in Wasser, in Äther und in Chloroform, oder nur spurenweise, löst sich aber bei Gegenwart fetter Säuren

---

[1]) Vierordt, Zeitschr. f. Biol. **10**. 45.

[2]) Thudichum, Journ. of the chem. Soc. [2] **14**. 935. 1876. — J. B. Haycraft und H. Scofield a. a. O.

[3]) V. Arnold, Jahresber. f. Tierch. **29**. 328. 1899.

[4]) A. Jolles, Pflügers Archiv **61**. 627. 1895.

[5]) E. Niethammer, Diss. Tübingen 1907.

[6]) Mac Munn, Proc. Roy. Soc. **35**; Jahresber. f. Tierch. 1883. 320.

Digitized by Google

in Äther und in Chloroform. Mit Weingeist gibt es leicht eine tiefbraune Lösung, welche in starker Verdünnung die Farbe stark pigmentierten ikterischen Harnes besitzt. Auf Zusatz von etwas Salzsäure ändert sich die Färbung nicht, durch Alkalien wird sie lebhafter, mehr rötlichbraun.

2. In Ammoniak und in natronhaltigem Wasser löst sich das Bilifuscin leicht mit tiefbrauner Farbe. Chlorcalcium fällt aus der Lösung dunkelbraune Flocken.

3. Spektroskopisch verhält sich das Bilifuscin wie das Biliprasin.

e) Cholecyanin (Bilicyanin, Choleverdin).

Bei der Oxydation der Gallenfarbstoffe mit Salpetersäure, Bleisuperoxyd, übermangansaurem Kali, atmosphärischem Sauerstoff bei Gegenwart von Chlorzink in alkalischer Lösung etc. treten nach den Untersuchungen von Jaffe, Fudakowski, Stokvis, sowie Heynsius und Campbell [1]) die zwei Absorptionsstreifen α und β des unten abgebildeten ersten Spektrums auf; bei weiterer Oxydation gesellt sich ihnen ein dritter, γ, mit γ des Choletelins identischer, hinzu. Es hat den Anschein, als ob γ von gebildetem Choletelin herrührt, während nur α und β einem besonderen Farbstoff, dem Cholecyanin, angehören; doch lässt sich vorderhand kein sicheres Urteil gewinnen.

1. Das Cholecyanin löst sich nicht in Wasser, schwer in Alkohol, Amylalkohol, Chloroform, Äther, leicht dagegen in Alkalien und starken Säuren.

2. Nach Zusatz von Alkali ist das Cholecyanin sehr leicht löslich in Wasser und in Alkohol, aber unlöslich in Äther, Chloroform und in Amylalkohol, nach Zusatz von Säuren dagegen löst es sich nur sehr wenig in Wasser, mit der grössten Leichtigkeit aber in Alkohol, Amylalkohol, Äther und Chloroform. Durch Bleizucker wird es nicht gefällt. Aus der sauren, alkoholischen Auflösung wird das Cholecyanin durch Neutralisieren und Zusatz von viel Wasser niedergeschlagen.

3. Unter reduzierenden Einflüssen (durch Schwefelammon, in faulendem Harn) wird es nach Haycraft und Scofield in Bilirubin verwandelt. Auch durch Zink und Salzsäure wird es nach Jolles reduziert.

4. Die neutralen oder äusserst schwach sauren Lösungen des Cholecyanins sind blaugrün oder stahlblau und besitzen eine prachtvoll rote Fluorescenz. — Die alkalischen Lösungen sind grün und fluorescieren nur unbedeutend. — Die Lösungen in sehr verdünnten Säuren sind schön rot und die stark sauren Lösungen violettblau.

5 Das Cholecyanin besitzt ein ausgezeichnetes Spektrum.

In neutraler Lösung zeigt das Absorptionsspektrum des Cholecyanins drei schmale Streifen, von welchen α und γ dunkel sind, β heller ist; α deckt mit seinem rechten Rand C, β ebenso D, während γ die Mitte zwischen D und E ein-

[1]) Jaffé. Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1868. 241. — Fudakowski, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1869. 129. — Stokvis, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1872. 784; Maandblad voor Natuurwetensch. 3. Nr. 1. — Heynsius und Campbell, Pflügers Archiv 4. 520. 1871.

Digitized by Google

nimmt. Der Streifen α ist so dunkel, wie der im Rot gelegene Streifen des Hämatins in saurer Lösung, wie denn beide Spektren einander sehr ähnlich sind. — In saurer Lösung liegen α und β links und rechts von D, nahe bei dieser Linie, und besitzen die ursprüngliche Breite, während γ die Lage von γ des Choletelins einnimmt und mit dem rechten Rand F ein wenig überschreitet (Tafel I, Spektrum 6a). — In alkalischer Lösung sind α und β nach rechts, γ nach links gerückt; α deckt jetzt mit seinem linken Rande C, β wird nahezu in der Mitte von D durchschnitten und γ nimmt denselben Ort ein, wie δ des Choletelins (Spektrum 6b).

f) Choletelin ($C_{15}H_{18}N_2O_6$?).

1. Das (mit Salpetersäure aus Bilirubin dargestellte) Choletelin bildet einen braunen amorphen Körper, der sich mit rubinroter Farbe leicht in Alkohol und wenig in Chloroform, dagegen nicht in Äther löst. Die verdünnten Lösungen desselben besitzen nicht, wie das Urobilin, eine rosenrote, sondern eine gelbrote Färbung, die sich weder auf Zusatz von Säuren noch von Alkalien ändert, während das beim Urobilin der Fall ist. Die Lösungen fluorescieren nicht. Wasser schlägt es aus seiner alkoholischen Lösung nieder.

Ein Choletelin, welches Stokvis durch Behandeln einer neutralen alkoholischen Cholecyaninlösung mit Chlorzink und Jodtinktur oder beim Kochen derselben mit wenig Bleisuperoxyd erhielt, war in verdünnter Lösung oder in dünner Schicht rosenrot, fluorescierte auch ohne Chlorzink prachtvoll grün und ging aus der alkoholischen (!) Lösung leicht in Äther und in Chloroform über; die rotgelbe oder rote Färbung seiner Lösung in säurehaltigem Alkohol wurde beim Übersättigen mit Alkali hellgelb. Der Farbstoff verhielt sich also ganz wie Urobilin. Auch Fr. Müller [1]) erhielt beim Behandeln von reinem Bilirubin erst mit Jod und dann mit Salpetersäure einen Farbstoff, der mit dem Urobilin die größte Ähnlichkeit besass. Vom Hydrobilirubin (Urobilin) unterscheidet sich aber das Choletelin durch sein Absorptionsverhältnis (s. später).

2. Es löst sich in kohlensauren und in ätzenden Alkalien, auch in Ammoniak, mit brauner Farbe; Säuren fällen es aus den alkalischen Lösungen; Bleizucker fällt es nicht. Zusatz eines Zinksalzes zu der alkalischen Lösung ruft keine Fluorescenz hervor. Mineralsäuren lösen es nicht, wohl aber Eisessig. Dagegen löst es sich in Neutralsalzlösungen.

3. Das Choletelin zeigt ein verschiedenes spektrales Verhalten, je nachdem es durch Oxydation von Gallenfarbstoff in saurer oder in neutraler Lösung erhalten worden ist.

Von dem mit Salpetersäure dargestellten Choletelin absorbiert eine neutrale alkoholische Lösung das äusserste Rot des Spektrums am wenigsten, das äusserste Violett am stärksten; die Absorption nimmt vom Rot zum Violett ohne Unterbrechung zu, Absorptionsbänder fehlen (Vierordt). Die alkoholische saure Lösung zeigt einen Absorptionsstreifen (γ) zwischen b und F (Jaffe), er tritt sofort auf Zusatz von Essigsäure oder einer Mineralsäure zur alkoholischen Lösung auf. Derselbe Streifen ist auch in der essigsauren Lösung von vornherein

[1]) B. J. Stokvis, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1873. 211 u. 449. — Fr. Müller, Siebzigster Jahresbericht der schlesischen Gesellsch. f. vaterl. Kultur, 1892, med. Abteilung 2.

Digitized by Google

vorhanden und kommt auch auf Zusatz einer Säure zu der Lösung des Choletelins in Neutralsalzen zum Vorschein. Der Streifen nimmt nach Heynsius und Campbell [1]) genau dieselbe Lage ein, wie der Streifen γ des Bilicyanins in saurer Lösung (Tafel I, 6a). Die Lösung des Choletelins in Alkalien oder die mit Alkali versetzte alkoholische Lösung zeigt, wenigstens anfangs, keinen Streifen; aber mindestens auf Zusatz von Chlorzink zu diesen Lösungen oder von etwas Jodtinktur zur alkoholischen Lösung erscheint ein Streifen δ, der an derselben Stelle liegt wie γ der alkalischen Bilicyaninlösung.

Beide Streifen haben dieselbe Lage wie die des Urobilins. Die Ähnlichkeit zwischen beiden Farbstoffen wird aber noch grösser, insofern, als das durch Oxydation in neutraler Lösung dargestellte (f. 1.) Choletelin nach Stokvis [2]) auch in neutraler Lösung den Streifen mit ausgezeichneter Schärfe darbietet. Vom Hydrobilirubin ist das Choletelin jedoch bestimmt verschieden; setzt man das Licht-Absorptionsverhältnis des Hydrobilirubins = 1, so beträgt das des Choletelins in den verschiedenen Spektralbezirken nach Vierordts Messungen (s. S. 62 u. 63) 1,43—13,14.

Nach dem Abdampfen einer neutralen Lösung löst sich der gelbe Rückstand in Alkohol, die neue Lösung zeigt aber weder auf Zusatz einer Säure noch auf Zusatz von Alkalien, Chlorzink oder Jodtinktur einen Absorptionsstreifen.

4. Die Niederschläge, welche Choletelin mit Metallsalzen gibt, sind nicht dunkelrot wie die des Hydrobilirubins. Durch salpetersaures Silber wird das Choletelin erst auf Zusatz von Ammoniak (in braunen Flocken) gefällt.

5. Schwefelwasserstoff, sowie Zink und Salzsäure verändern das Choletelin nicht sichtlich; Natriumamalgam aber färbt seine Lösungen lichter und soll es in Hydrobilirubin überführen. Konzentrierte Salpetersäure scheint es nicht wesentlich anzugreifen.

g) Der reduzierbare Stoff von Stokvis [3]).

1. Derselbe entsteht als Nebenprodukt bei der vollständigen Oxydation der Gallenfarbstoffe. Er löst sich leicht in Wasser, Alkohol, Alkalien, in verdünnten Säuren farblos oder mit hellgelber Farbe, nicht in Äther und in Chloroform. Die Bleiacetate fällen ihn im Gegensatz zum Urobilinogen nicht. Bleiessig und Ammoniak schlagen ihn aber nieder; durch Behandeln des Bleiniederschlages unter Alkohol mit Schwefelwasserstoff kann er wieder gewonnen werden. In alkalischer Lösung verliert er schnell die Reduktionsfähigkeit, in schwach sauren Lösungen ist er viel beständiger.

2. Er ist ausgezeichnet dadurch, dass seine alkalische Lösung beim Kochen mit reduzierenden Substanzen (Schwefelammon, Zinn etc.) schön rosenrot wird und dann einen Absorptions*schatten* in Grün zwischen D und b zeigt, der beim Verdünnen der Lösung nur bis E reicht und vom roten Ende her immer mehr verschwindet. Schütteln der Lösung mit Luft beseitigt den Schatten und die Rosafarbe wieder.

[1]) Jaffé, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1868. 241; Virchows Archiv **47.** 242. — Maly, Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch. zu Wien **59.** 2. Abt. 602. 1869. — Heynsius und Campbell, Pflügers Archiv **4.** 535. 1871. — Vierordt, Zeitschr. f. Biol. **10.** 399. 1874.

[2]) B. J. Stokvis, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1873. 211 u. 449.

[3]) Stokvis, Maandbl. voor Natuurwetensch. **2.** 17; Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1872. 3.

Digitized by Google

C. Nachweis. Ikterischer Harn ist gelb, braun, grün, sein Schaum gelb, während der Schaum dunkler, aber gallenfarbstofffreier Harne weiss ist; nur bei stark urobilinhaltigem Harn kann der Schaum gleichfalls gelb sein. Beim Filtrieren hinterlässt er auf dem Filter einen gelben Belag. Dieses Verhalten genügt jedoch nicht zum sicheren Nachweis des Gallenfarbstoffes, es ist dazu noch eine besondere Untersuchung des Harns erforderlich.

I. Nachweis im Harn direkt.

1. Die von Tiedemann und Gmelin[1]) für den Nachweis des Gallenfarbstoffes als die sicherste empfohlene Probe ist es für die gewöhnlichen Fälle auch heute noch (B. a. 8.). Beweisend für die Gegenwart des Gallenfarbstoffes ist nur das Auftreten der grünen Färbung (s. S. 1359), da andere auch im normalen Harn vorkommende Substanzen (Indican) Blau und Rot geben; auch ist es gleichgültig, ob ausser dem Grün noch andere Farben wahrgenommen werden. — Alkoholische Lösungen der Gallenfarbstoffe dürfen der Probe nicht unterworfen werden, weil der Alkohol allein eine ganz ähnliche und zwar sehr schöne Farbenprobe gibt (Huppert). Man stellt die Probe am besten in folgender Weise an.

Man giesst in ein Reagenzglas einige Kubikzentimeter schwach gelbe Salpetersäure (nach Nichols[2]) ist die unreine Salpetersäure des Handels am geeignetsten) und auf diese, ohne dass sich die Flüssigkeiten mischen, einige Kubikzentimeter von dem Harn, der auf Gallenfarbstoff untersucht werden soll. Das lässt sich entweder in der Weise bewirken, dass man das Reagenzglas mit der Salpetersäure möglichst schief hält und den Harn nun auf die Salpetersäure fliessen lässt, oder indem man den Harn aus einer Pipette, welche man bis an die Oberfläche der Säure in das Reagenzglas einführt, vorsichtig zufliessen lässt (s. auch bei Hellersche Eiweissprobe S. 1111).

Urobilinreiche ikterische Harne geben die Gmelinsche Reaktion schlecht; man kann dann, wenn man nicht vorzieht den Farbstoff nach C. II. zu isolieren, die Probe mit dem verdünnten Harn wiederholen. Die Verdünnung (bis auf 1,005 oder noch darunter) wird nach Zeehuisen von Stokvis überhaupt empfohlen, weil dann bloss die Grünfärbung auftritt und das Braun vollständig fehlt. Von Vorteil fand Grimm[3]), in solchen Fällen den Harn zur Entfernung des Urobilins vorher mit Äther auszuschütteln; der Äther muss aber ganz alkoholfrei sein, weil Alkohol mit der Salpetersäure eine der Gmelinschen ganz ähnliche Farbenreaktion gibt.

Die Gegenwart von Eiweiss beeinträchtigt die Gmelinsche Reaktion zwar in gallenfarbstoffreichen Harnen nicht, in welchen das Grün in dem Eiweissniederschlag deutlich hervortritt; aber kleine Mengen Gallenfarbstoff sind nicht mehr sicher nachweisbar und über die Abwesenheit des Gallenfarbstoffes erlangt man keine Gewissheit, weil in eiweisshaltigem Harn über dem roten Ring, wo der grüne liegen müsste, ein grauer entsteht, der einen schwachen grünen Ring verdeckt (Steiner). Es muss daher das Eiweiss vorher entfernt werden. Dies

[1]) Tiedemann und Gmelin a. a. O. 81.
[2]) Nichols, The med. News 26. Dec. 1896.
[3]) H. Zeehuisen, Zeitschr. f. klin. Med. 27. 189. 1895. — F. Grimm, Virchows Archiv 132. 265. 1893.

Digitized by Google

geschieht entweder durch Koagulation (Seite 1106 ff.) oder nach Heller [1]) durch Fällen desselben mit konzentrierter Salzsäure. Geringe Mengen Gallenfarbstoff können aber völlig mit dem Albumin niedergeschlagen werden; es ist dann der Niederschlag zu trocknen und mit Chloroform auszuziehen.

Süss [2]) macht die Angabe, dass auch normaler Harn nach dem Gebrauch von Antipyrin beim Schichten auf Salpetersäure einen schwachen grünlichen Ring zeigt, aber ohne die anderen Farben.

2. Von der Gmelinschen Probe sind noch einige Modifikationen in Vorschlag gebracht worden.

a) Rosenbach empfiehlt, den Harn zu filtrieren und das Filter entweder noch feucht oder, wenn es trocken geworden ist, nach dem Anfeuchten mit Wasser mit einem Tropfen Salpetersäure zu betupfen. Es bildet sich dann ein Farbenring, der von ihnen nach aussen gelbrot, violett, blau, grün erscheint. Die Farben halten sich eine Zeit lang. — Dragendorff [3]) lässt einige Tropfen Harn in eine poröse Tonplatte eindringen und benetzt den Fleck mit Salpetersäure. — Gallenfarbstoffhaltiger Harn im Spitzglas auf 200—300 ccm mit 15—20 Tropfen rauchender Salpetersäure versetzt, färbt sich in toto grün (Gresslich) [4]).

b) Fleischl [5]) versetzt den Harn mit einer konzentrierten Lösung von salpetersaurem Natron und bringt dann (mit einer Pipette) konzentrierte Schwefelsäure auf den Boden des Reagenzglases, wonach die Reaktion langsamer als in der gewöhnlichen Probe verlaufen soll.

c) Crouzel [6]) mischt drei Volumina reiner Schwefelsäure und 1 Vol. reiner HNO_3 und überschichtet das Gemisch mit dem gleichen Volum Harn. Dieser färbt sich bei Gegenwart von Gallenfarbstoffen grün; die Berührungszone wird orangerot, der übrige Teil des Reagens bleibt farblos.

d) Nach Vitali nimmt ikterischer Harn, wenn er mit einem Tropfen einer Lösung von Kaliumnitrit und etwas verdünnter Schwefelsäure versetzt wird, eine schön grüne Farbe an, selbst dann, wenn im Harn nur Spuren von Gallenfarbstoff enthalten sind. Nach einiger Zeit verschwindet das Grün und geht sogleich in Gelb über, ohne vorher Rot oder Blau zu durchlaufen. — Klehbiel versetzt den Harn mit $\frac{1}{4}$ Volumen Salzsäure und dann tropfenweise mit salpetriger Säure (salpetrigsaurem Salz); der Harn wird zunächst grün und zeigt dann die anderen Farben. — Masset wendet statt der Nitritlösung festes Salz an und fügt es dem Harn nach der Schwefelsäure zu. Die grüne Färbung soll auch beim Kochen bestehen bleiben und sich mehrere Tage unverändert halten. — Bonano [7]) empfiehlt zum Harn wenige Tropfen folgenden Reagens hinzuzugeben: HCl 10 ccm, Natriumnitrit 0,2 g. Bei Anwesenheit von Gallenfarbstoff nimmt der Harn eine smaragdgrüne Farbe an. Die Reaktion soll nicht durch andere Substanzen vorgetäuscht werden.

e) Rosenbach setzt dem Harn tropfenweise unter stetem Schütteln eine 5%ige Chromsäurelösung zu; je stärker der Gallenfarbstoffgehalt, desto vorsichtiger

[1]) J. Steiner, Arch. f. Anat. 1873. 178. — Heller, dessen Archiv 4. 305. 1847.

[2]) Süss, Pharm. Zentralhalle 35. 741; Chem. Zentralbl. 1. 292. 1895.

[3]) O. Rosenbach, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1876. 5. — Dragendorff, Zeitschr. f. analyt. Ch. 25. 459.

[4]) W. Gresslich, Münchener med. Wochenschr. 52. 220. 1905.

[5]) E. Fleischl, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1875. 561; Zeitschr. f. analyt. Ch. 15. 502.

[6]) Crouzel, Ann. Chim. analyt. appl. 17. 58. 1912.

[7]) Vitali, Jahresber. f. Tierch. 1873. 149. — G. A. A. Klehbiel, Wiener med. Wochenschr. 1883. 10. — Masset, Chem. Zentralbl. 1879. 585; Zeitschr. f. analyt. Ch. 19. 255. — C. Bonano, Il Tomasi 2. Nr. 21. 1908.

Digitized by Google

soll der Chromsäurezusatz erfolgen. Bei Gegenwart von Gallenfarbstoff wird der Harn bloss grün; ein Überschuss an Reagens erteilt dem Harn eine braune Farbe. — Betupft man ein Filter, durch welches ikterischer Harn filtriert war, so tritt ein grüner Fleck auf. Diese Probe hat das Bedenken, dass die Chromsäure durch viele Substanzen, auch durch Papier, zu (grünem) Chromoxyd reduziert wird. Nach Zeehuisen ist sie wenig empfindlich. — Biffi [1]) benutzt Kaliumbichromat als Oxydationsmittel.

f) Guerra [2]) oxydiert mit einer salzsauren Lösung von Eisenchlorid; er schichtet den Harn auf eine eisenchloridhaltige HCl, oder er versetzt den stark salzsauren Harn mit Eisenchlorid. Es kommt nur zur Grünfärbung.

g) Bei der von Ultzmann angegebenen Probe wird das Bilirubin in alkalischer Lösung durch den atmosphärischen Sauerstoff oxydiert. Es werden 10 ccm Harn mit 3—4 ccm einer Kalilauge geschüttelt, welche 1 Teil Kaliumhydrat auf 3 Teile Wasser enthält, dann die Mischung mit Salzsäure übersättigt, worauf die Flüssigkeit schön smaragdgrün erscheint, wenn der Harn Gallenfarbstoff enthält. Zum Gelingen der Probe ist unbedingt erforderlich, dass die Kalilauge die angegebene Konzentration besitzt. — Betz [3]) empfiehlt, den Harn mit Salmiakgeist zu überschichten; es tritt dann ein grüner Ring auf. Nach einiger Zeit wird der ganze Salmiakgeist grün.

h) Auf einen analogen Vorgang stützt sich die Beobachtung von Donné [4]), nach welchem sich Äther, der mit ikterischem Harn geschüttelt wird, mehr oder minder grünlich gelb färbt, während normaler Harn den Äther ungefärbt lässt.

3. Von Trousseau und Dumontpallier, von E. Maréchal, von W. G. Smith und von Kathrein [5]) wird Jodtinktur zum Nachweis des Gallenfarbstoffes im Harn empfohlen. Auf Zusatz einiger Tropfen Jodtinktur färbt sich ikterischer Harn selbst bei starker Verdünnung noch schön smaragdgrün; lässt man die Jodtinktur vorsichtig auf den Harn fliessen, so färbt sich die Grenzschicht schön grün (B. a. 7.).

Rosin [6]), welcher diese Schichtproben aufs neue empfiehlt, verwendet dazu offizinelle Jodtinktur, welche mit Alkohol auf das zehnfache verdünnt ist. Der entstehende grüne Ring hält sich stundenlang, selbst da, wo die Gmelinsche Probe versagt. Normaler Harn zeigt eine hellgelbe oder farblose Schicht. Nach Zeehuisen ist die Probe jedoch nicht eindeutig, da auch viele normale Harne die grüne Schicht geben.

Bromwasser lässt sich ebenso verwenden. — Klehbiel oxydiert den Farbstoff des mit $\frac{1}{4}$ Volumen Salzsäure vermischten Harns durch tropfenweisen Zusatz von gesättigter Chlorkalklösung. Die Reaktion fällt nicht so schön aus, wie die mit salpetriger Säure.

4. Die Cholecyaninprobe von Stokvis [7]). Wenn die Gmelinsche Reaktion unsicher ist, so soll man 20—30 ccm Harn mit

[1]) O. Rosenbach, Deutsche med. Wochenschr. 17. 1892; Chem. Zentralbl. 2. 557. 1892. — H. Zeehuisen a. a. O. — Biffi, Jahresber. f. Tierch. **30** u. **31**.

[2]) Z. Guerra, Jahresber. f. Tierch. **30** u. **31**.

[3]) R. Ultzmann, Wiener med. Presse 32. 1877. — Fr. Betz, Memorabilien 41. 395.

[4]) Donné, Comptes rendus **12**. 956. 1881.

[5]) Trousseau und Dumontpallier, L'Union méd. 39. 1863. — E. Maréchal, Zeitschr. f. analyt. Ch. 8. 99. 1869. — W. G. Smith, Dublin Journ. of med. Sciences 1876. 449. — Kathrein, Pharm. Post 43. 1890; Chem. Zentralbl. 1. 272. 1891.

[6]) H. Rosin, Berliner klin. Wochenschr. 1893. 106; Zeitschr. f. analyt. Ch. **32**. 515. — Zeehuisen, l. c.

[7]) Stokvis, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk., Festb. 1882. 118; Jahresber. f. Tierch. 1882. 226.

Digitized by Google

5—10 ccm einer 20%igen Chlorzink- (oder nach Binnendijk Zinkacetat-) Lösung versetzen und die stark saure Reaktion mit kohlensaurem Natron etwas abstumpfen; der entstandene voluminöse Niederschlag enthält allen Gallenfarbstoff. Man wäscht ihn auf dem Filter und löst ihn in starkem Ammoniak, wobei das Bilirubin mehr oder minder in Cholecyanin übergeführt wird. Die ammoniakalische Lösung zeigt, wenn Gallenfarbstoff vorhanden war, meistens Fluorescenz und immer die Cholecyaninstreifen (B. e. 4. u. 5.).

5. Mittels der Diazobenzolsulfonsäure (B. a. 12.) kann man Gallenfarbstoff (Bilirubin) nach Ehrlich in der Weise auffinden, dass man den Harn erst mit 1 Volumen 30%iger Essigsäure und darauf tropfenweise mit der 0,1%igen Säurelösung versetzt. Bei Gegenwart von Bilirubin tritt eine Verdunkelung auf, und auf Zusatz von viel Eisessig oder beim Kochen eine Violettfärbung.

Das Reagens kann man sich in der Weise bereiten, dass man 1 g Sulfanilsäure (Para-Anilinsulfonsäure) in wässeriger Lösung mit 15 ccm Salzsäure und 0,1 g Natriumnitrit versetzt und die Lösung auf 1 Liter verdünnt.

Krokiewicz und Batko empfehlen folgende Probe als sehr empfindlich. Einige Tropfen einer 1%igen wässerigen Sulfanilsäurelösung und ca. ½ ccm 1%ige Lösung von Natriumnitrit werden mit ca. ½—1 ccm Harn und einigen Tropfen reiner konzentrierter Salzsäure versetzt. Beim Umschütteln tritt eine tief violette Färbung ein, die beim sofortigen Verdünnen mit Wasser amethystviolett wird. Die Färbung hält sich längere Zeit unverändert. — Die Reaktion soll Kälbergalle in einer Verdünnung mit Wasser von 1 : 500 noch erkennen lassen; wäre also mmerhin weniger scharf, wie die Salkowskische oder die Hammarstensche Probe. — Riegler empfiehlt Paradiazonitrobenzol, welches mit Bilirubin einen rotvioletten Niederschlag erzeugt, der in Chloroform löslich ist. Diese Probe ist aber, was Empfindlichkeit und Deutlichkeit anbelangt, minderwertig gegenüber anderen Proben (Schildbach) und daher entbehrlich. — Pröscher empfiehlt 10 ccm Harn mit Ammoniumsulfat durch Sättigen zu fällen, den farbigen Niederschlag mit Alkohol zu extrahieren, den Extrakt mit Salzsäure stark anzusäuern und dann mit Ehrlichs Reagens (alkoholische Diazetophenollösung) zu versetzen. Bei Anwesenheit von Bilirubin tritt Blaufärbung ein. Bei Unterschichtung mit KOH entsteht ein grünrotblauer Ring, wie ihn schon Ehrlich beschrieben. Auch diese Probe ist viel weniger scharf, wie die Fällungsreaktionen (s. später). — Raphael [1]) versetzt 2—3 Tropfen Natriumnitritlösung mit 5 ccm Sulfanilsäurelösung und 5 ccm Harn. Bei Gegenwart von Bilirubin tritt zunächst Amethystfarbe, dann Kirschrot auf. Fügt man erst das Nitrit zu Harn und setzt dann die Sulfanilsäure hinzu, so erhält man eine gelbgrüne Lösung, die später ins kirschrot übergeht.

6. In zweifelhaften Fällen kann man auch den reduzierbaren Stoff (B. g.) aufsuchen, wobei der negative Ausfall der Probe sicher auf die Abwesenheit von Gallenfarbstoff schliessen lässt.

Man fällt nach Stokvis [2]) den Harn bei nativ saurer Reaktion mit Bleizucker, wenn nötig mit Bleiessig, entfernt das überschüssige Blei mit Oxalsäure und kocht das Filtrat mit überschüssigem Kali oder Natron. Zusatz einer redu-

[1]) A. Krokiewicz und J. Batko, Wiener klin. Wochenschr. 1898. 173. — E. Riegler, Wiener med. Blätter 1899. Nr. 12. — Fr. W. Schildbach, Zentralbl. f. inn. Med. **26**. 1097. 1905. — F. Pröscher, Zeitschr. f. physiol. Ch. **29**. 411. 1900; Zentralbl. f. inn. Med. **22**. 169. 1901. — A. Raphael, St. Petersburger med. Wochenschr. **30**. 128. 1905.

[2]) Stokvis a. a. O. und Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1872. 4.

Digitized by Google

zierenden Substanz ist beim Harn nicht nötig. Die Reaktion ist gelungen, wenn die Flüssigkeit mehr oder minder orangerot wird und vor dem Spektroskop den verwaschenen Schatten zwischen D und E zeigt.

7. Die Angabe von Paul und von Yvon, dass normaler Harn durch Methylanilin (Violet de Paris) violettblau, ikterischer aber violettrot werden soll, ist von verschiedenen Seiten her [1]) widerlegt worden; es färbt sich jeder stark gefärbte Harn mit Methylanilin rot, weil das Blau des Violett durch das Gelb des Harns ausgelöscht wird.

8. Nach Gluzinski [2]) zeigen Gallenfarbstoffe (auch im Harn) mit Formalin erwärmt smaragdgrüne Färbung, die mit Salzsäure amethystviolett wird. Die alkalische Lösung ist grün. Die Probe ist nicht besonders scharf.

Die Probe beruht nach Arnold [3]) auf der Bildung von Bilicyanin, dessen Spektrum auch auftritt.

9. Auch Oberflächenspannung und Viskosität hat man nach Hay zum Nachweis von Gallenfarbstoff heranzuziehen versucht (Garés). Es ist aber naturgemäss zu erwarten, dass diese Konstanten durch die verschiedensten Momente beeinflussbar sind, wie das aus Untersuchungen von Gennet noch besonders hervorgeht [4]).

10. Gallenfarbstoffhaltiger Harn gibt mit schwacher Methylenblaulösung ein zartes Grün (Chetchowski, Moukton). Diese Färbung vergeht beim Erhitzen, kommt beim Erkalten wieder (Duncan). Bei Zusatz von Methylviolett tritt eine rote Farbe auf (Neermann, Duncan). — Es handelt sich hierbei um physikalische Farbemischung (Roch); praktisch sind diese Reaktionen nicht brauchbar (Roch) oder höchstens zu orientierender Probe (Petersen) [5]).

11. Lässt man zu Harn (eventuell verdünnt) 1—2 Tropfen einer $^1/_2$%igen Rosanilinlösung hinzufallen, so fällt orangefarbenes Rosanilinbilirubinat aus (Baudouin) [6]).

II. Nachweis durch Isolierung des Gallenfarbstoffes.

Kleine Mengen Gallenfarbstoff lassen sich, namentlich in sehr dunklen oder an Indican reichen Harnen mit der

[1]) C. Paul, Zeitschr. f. analyt. Ch. **16**. 132. — Yvon, Bull. de thérap. **89**. 551. 1875; **90**. 73. 1876. — Demelle und Longuet, Chem. Zentralbl. 1876. 697; Zeitschr. f. analyt. Ch. **16**. 260. — A. Gubler, Gaz. hebdomad. 21. 1876. — O. Rosenbach, Deutsche med. Wochenschr. 16. 1876.

[2]) A. Gluzinski, Wiener klin. Wochenschr. 1897. Nr. 52.

[3]) W. Arnold, Przeglad lekarski **37**. Nr. 36—38. 1899; Jahresber. f. Tierch. **29**. 328. 1899.

[4]) Garés, Thèse de Toulouse 1901/02. — V. Gennet, Thèse de Paris 1902; s. auch bei Gallensäuren.

[5]) Moukton, Brit. Med. Journ. Oct. 1902. — Duncan, Ebenda 1903. Febr. — Roch, Revue méd. de la suisse romaine 1903. 163. — K. Chetchowski, Gaz. lekarska 1897. Nr. 95. 397. — Neermann, Hospitals tidende 1900. Nr. 21. — O. V. C. E. Petersen, Deutsche med. Wochenschrift **37**. 1891. 1911.

[6]) F. Baudouin, La semaine méd. **22**. 398. 1903.

Digitized by Google

Gmelinschen Probe nicht mehr nachweisen; in indicanreichem Harn kann sogar nach Zusatz von Salpetersäure das Blau des Indigos mit dem Gelb des Harns Grün geben. In solchen und anderen zweifelhaften Fällen ist es notwendig, den Gallenfarbstoff aus dem Harn abzuscheiden. Dazu sind zwei Möglichkeiten vorhanden, das Fällen desselben als unlösliche Verbindung oder die Extraktion mit einem Lösungsmittel.

Es genügt unter Umständen auch, das aus dem Harn beim Stehen sich absetzende Sediment mikroskopisch zu untersuchen. Die vorhandenen Zellen sind dann gelblich. Man lässt den Harn erst einige Stunden stehen und zentrifugiert dann und mikroskopiert (Gerlach)[1].

1. Durch Fällung.

Dazu macht man den Harn mit kohlensaurem Natron oder Ätznatron alkalisch und versetzt ihn mit Chlorbarium oder Chlorcalcium, so lange er einen gefärbten Niederschlag gibt, oder fällt ihn gleich mit Kalkmilch (Huppert) oder Bariumhydrat (Hilger)[2] im Überschuss. Der Niederschlag aus ikterischem Harn ist gelb, der aus normalem Harn weiss, der aus Chrysophansäure enthaltendem rosenrot. Kocht man den abfiltrierten Niederschlag mit Alkohol, welchem ein paar Tropfen verdünnte Schwefelsäure zugesetzt sind, so entfärbt sich der Niederschlag und man erhält eine schön grüne Lösung (aus Chrysophansäureharn eine orangegelbe, aus normalem eine farblose). Die Probe gelingt noch mit Harnen, welche trotz starker Färbung nur eine zweifelhafte Gmelinsche Reaktion geben.

Die hier angeführten Tatsachen haben zu zahlreichen Vorschriften für den Nachweis des Gallenfarbstoffes im Harn geführt.

a) Salkowski löst den ausgewaschenen Ca-Niederschlag in salzsaurem Alkohol (5 ccm konz. HCl auf 100 ccm Alkohol). Kocht man die klare Lösung, so färbt sie sich grün bis blau; auf Zusatz von HNO_3 wird die Flüssigkeit blau, violett, rot. Munk hat die Genauigkeit dieser Methode geprüft und gibt die Empfindlichkeit zu 0,02—0,01 mg Bilirubin in 10 ccm Harn an. Sie ist wesentlich schärfer wie die Gmelinsche und die Rosinsche Reaktion (6 mg in 10 ccm Harn). Auch Schippers[3]) gibt die Empfindlichkeit ebenso an.

Salkowski hält die Verwendung der Salzsäure statt der Schwefelsäure für wesentlich, da schwefelsäurehaltiger Alkohol wegen der Bildung von schwefelsaurem Kalk wesentlich schlechter extrahiere.

[1]) Gerlach, Therap. Monatshefte 17. 56. 1903.

[2]) H. Huppert, Archiv d. Heilk. 8. 351 u. 476. — A. Hilger, Archiv d. Pharm. [3] 6. 385.

[3]) E. Salkowski, Praktikum d. physiol. u. pathol. Ch. II. Aufl. 1890. — J. Munk, Archiv f. Physiol. 1898. 361. — E. Salkowski, Arbeiten a. d. Pathol. Institut zu Berlin 1906. S. A. — Schippers, Biochem. Ztschr. 9. 241. 1908.

Digitized by Google

b) Hammarsten[1]) löst den ausgewaschenen Niederschlag in einer alkoholischen Salz-Salpetersäure. Die filtrierte Lösung ist bei Anwesenheit von Gallenfarbstoff grün. Die grüne Farbe ist sehr beständig. Die Hammarstensche Modifikation genügt allen Anforderungen und sei besonders empfohlen. Man kann natürlich, statt den Ca-Niederschlag auf einem Filter zu sammeln, auch die Zentrifuge zu Hilfe nehmen, wobei der Nachweis erheblich rascher gelingt. Als Oxydationsflüssigkeit benutzt Hammarsten ein Säure-Alkoholgemisch. Die Säure wird von dem Alkohol getrennt aufgehoben, und zwar besteht die Säure aus einem Gemisch von 19 Teilen 25%iger HCl und 1 Teil 25%iger HNO_3. Man benützt zweckmässig eine durch längeres Stehen gelb gewordene Mischung. Von dieser Säuremischung werden je nach dem Gallenfarbstoffgehalt 1 Teil auf 5—9 Teile 96%igen Alkohol genommen, und mit diesem Säure-Alkoholgemisch der Niederschlag zusammengebracht. Beim Erwärmen tritt die Grünfärbung rasch ein. Um die Farbe deutlich zu bekommen, filtriert man oder zentrifugiert man von neuem.

Man kann auch den Barytniederschlag in der gleichen Weise mit Hammarstens Reagens behandeln. Bei Erzeugung des Barytniederschlages soll man nicht vorher alkalisieren.

Bouma[2]) fällt statt mit $CaCl_2$ mit $BaCl_2$ bei schwach sauerer Reaktion. Bei alkalischer Reaktion wird Bilirubin mitgefällt. Die Oxydation wird durch Obermayersches Reagens (2 g $FeCl_3$ auf 100 ccm konz. HCl) bewirkt. Dieses Reagens soll vor dem Hammarstenschen den Vorteil haben, dass eine Überoxydation schwerer eintritt. Eine solche Überoxydation lässt sich aber bei geeigneter Verdünnung der Salpetersalzsäure mit Alkohol auch bei der Hammarstenschen Probe vermeiden.

Nach Arnold[3]) bleibt beim Zerlegen des Barytniederschlages mit konz. HCl das Bilirubin auf dem Filter zurück. Im Filterrückstand tritt dann mit HNO_3 die Gmelinsche Reaktion auf. Diese Modifikation der Huppertschen Probe soll schärfer sein wie die Huppertsche Probe.

Man kann den Niederschlag mit einer Lösung von kohlensaurem Natron erwärmen und die grüne oder braungrüne Lösung für die Gmelinsche Reaktion verwenden. — Aus dem neutralisierten Niederschlag lässt sich auch durch Chloroform Bilirubin ausziehen. — Beim Aufbewahren bleicht der Niederschlag, namentlich im Lichte.

[1]) O. Hammarsten, Skandinav. Archiv f. Physiol. **9**. 313. 1899.

[2]) J. Bouma, Festband für Dr. S. Talma 1901. 163; Jahresbericht f. Tierch. **31**. 445. 1901.

[3]) W. Arnold, Przeglad lekarski **37**. Nr. 36—38. 1899; Jahresber. f. Tierch. **29**. 329. 1899.

Digitized by Google

Zur Ausfällung des Farbstoffs hat Schwertfeger zuerst das basisch essigsaure Blei vorgeschlagen; dasselbe ist aber dazu nicht geeignet, weil durch dasselbe auch die normalen Harnfarbstoffe niedergeschlagen werden. Scherer[1]) empfahl statt dessen die Fällung des Harns mit einem Barytsalze. Beide Methoden waren aber in Vergessenheit geraten.

Jolles empfiehlt 50 ccm Harn in einem Scheidetrichter mit einigen Tropfen Salzsäure zu versetzen, mit Chlorbarium auszufällen und dann mit 5 ccm Chloroform einige Minuten tüchtig zu schütteln. Wenn sich der Niederschlag (nach 10 Minuten) abgesetzt hat, lässt man ihn in ein Reagenzglas fliessen, verdunstet das Chloroform durch Eintauchen des Glases in warmes Wasser und setzt dann vorsichtig Salpetersäure zu. Später hat Jolles[2]) folgendes Verfahren empfohlen: 10 ccm Harn werden mit 2—3 ccm Chloroform und 1 ccm 10%iger Chlorbariumlösung geschüttelt; dann zentrifugiert man den Inhalt, giesst die Flüssigkeit ab, füllt mit destilliertem Wasser auf, zentrifugiert wieder und wiederholt die Operation bei stark gefärbtem Harn noch ein drittes Mal. Nach Abgiessen der über dem Chloroform und dem Niederschlag stehenden Flüssigkeit wird der Rückstand mit 5 ccm Alkohol versetzt, kräftig geschüttelt, dann mit 2—3 Tropfen der untenstehenden Jodlösung zusammengebracht und filtriert. Bei Gegenwart der geringsten Spuren von Gallenfarbstoff zeigt die Flüssigkeit nach einigem Stehen die charakteristische Grünfärbung. Durch Erwärmen kann die Reaktion beschleunigt werden. 0,1 mg sollen in 100 ccm Harn noch nachweisbar sein. Die Jodlösung wird durch Lösen von 0,63 g Jod und 0,75 g $HgCl_2$ in je 125 ccm Alkohol, Mischen der Lösungen und Zugiessen von 250 ccm konzentrierter Salzsäure hergestellt.

Ob durch diese Modifikation die Mängel der früheren Probe, die Hammarsten und Munk[3]) gezeigt hatten, behoben sind, erscheint zweifelhaft. Eine Hauptschwierigkeit besteht in der Emulsionsbildung, die weiteres Verarbeiten unmöglich macht.

Zeehuisen[4]) filtriert den Niederschlag ab und betupft das trocken gewordene Filter mit Salpetersäure; nach ihm leistet die Probe von Jolles nicht mehr als die Gmelinsche.

Vitali[5]) scheidet den Gallenfarbstoff durch Schütteln mit viel Tonerdehydrat oder mit feuchtem Schwefelblei ab, oder in der Weise, dass er in dem Harn durch Kochen einen Eiweissniederschlag erzeugt. Die mit den farblosen Fällungsmitteln entstandenen Niederschläge sind gelb oder grün; man kann mit ihnen direkt die Gmelinsche Reaktion anstellen. Diese und das Schwefelblei kann man auch mit schwefelsäurehaltigem Alkohol kochen; bei Gegenwart von Gallenfarbstoff färbt sich der Alkohol grün. Man kann ihnen auch das Bilirubin mit Chloroform entziehen (vgl. 2.).

Durch Sättigen des Harns mit Ammonsulfat lässt sich zwar auch der Gallenfarbstoff abscheiden (Méhu)[6]), der Niederschlag ist aber so unrein, dass sich ein auf diese Fällbarkeit gegründetes Verfahren zum Nachweis des Gallenfarbstoffes nicht besonders empfiehlt.

c) Grimbert[7]) verwirft die Gmelinsche Reaktion für den Harn vollständig. Er empfiehlt dafür folgende Modifikation der Hammarsten-Salkowskischen Probe:

---

[1]) Schwertfeger, Archiv d. Pharm. 1848. — Scherer, Canstatts Jahresber. 1845. pathol. Ch. 87.

[2]) A. Jolles, Zeitschr. f. physiol. Ch. **18**. 545. 1894; **20**. 460. 1895; Zeitschr. f. analyt. Ch. **42**. 713. 1903; Deutsches Archiv f. klin. Med. **78**. 137. 1903.

[3]) O. Hammarsten l. c. — J. Munk l. c.

[4]) H. Zeehuisen, Zeitschr. f. klin. Med. **27**. 189. 1895.

[5]) D. Vitali, L'Orosi **15**. 42; Atti della R. Academia delle Sc. di Bologna 1892; Zeitschr. f. analyt. Ch. **31**. 725; Jahresber. f. Tierch. 1894. 676.

[6]) Méhu, Journ. de pharm. et de chimie [2] **28**. 164. 1876.

[7]) L. Grimbert, Journ. Pharm. Chim. [6] **22**. 487. 1906.

Digitized by Google

10 ccm (ev. auch 100—200 ccm) Harn werden mit 5 ccm 10%iger Bariumchloridlösung geschüttelt, der Niederschlag abzentrifugiert oder filtriert, in 4 ccm 90%igen Alkohols, der 5 Volumenprozent Salzsäure enthält, verteilt, 1 Minute im Wasserbad erwärmt, man lässt absitzen und prüft die überstehende Flüssigkeit. Ist die alkoholische Flüssigkeit schon grünlichblau oder grünlich, so weist dieses ohne weiteres auf Gallenfarbstoff hin. Ist dieselbe bräunlich gefärbt, so setzt man 2 Tropfen 10%iges Wasserstoffsuperoxyd hinzu und erhitzt von neuem auf dem Wasserbad, worauf die grüne Farbe deutlich zu erkennen ist.

Falls in pathologischen Harnen Bariumchlorid keinen oder nur einen sehr geringen Niederschlag erzeugt, so setzt man dem Harn einige Tropfen konzentrierte Natriumsulfatlösung hinzu.

Nach Schreck[1]) ist die Modifikation von Grimbert für den Hundeharn besonders zu empfehlen.

d) Nach Macadie[2]). 10 ccm des eventuell mit Essigsäure schwach angesäuerten Harnes werden mit einer genügenden Menge gesättigter Calciumchloridlösung versetzt, dann wird 2 Minuten zentrifugiert, die Flüssigkeit vom Sediment abgegossen, letzteres mit Wasser geschüttelt, letzteres abgegossen; das Sediment wird dann in einer Mischung aus 1 Teil HCl (1,16 D) und 3 Teilen Alkohol im Zentrifugierglas gelöst und 5—6 Tropfen HNO_3 zugelassen, so dass sich diese im spitzen Teil des Reagenzglases ansammeln. Bei Gegenwart von Gallenfarbstoffen treten bald von der HNO_3 aus die gefärbten Zonen auf: gelb, weinrot, blau, bläulichgrün, grün. Urobilin, Blutfarbstoffe, Indican stören nicht.

e) Nach Tuz[3]). Zu 200 ccm Harn werden 1 ccm 5%ige Schwefelsäure und 10 ccm einer 10%igen Bariumchloridlösung hinzugesetzt, die Flüssigkeit über dem Niederschlag abgegossen, derselbe auf einem Filter gesammelt, dessen Boden mit hygroskopischer Watte ausgelegt ist; auf dieser letzteren liegt eine Scheibe aus weichem schwedischen Papier. Auf diese Scheibe wird ein Tropfen Gmelinsches Reagens (8 Teile HNO_3 von 1,4 D und 2 Teile rauchende HNO_3) gebracht. Es treten sofort die charakteristischen Ringe auf. Es sollen so noch 1 : 1000000 Bilirubin nachweisbar sein. — Die Methode von Biffi gestattet den Nachweis von 1 : 500000 (s. später).

f) Modifikation der Huppertschen Probe von Nakayama[4]).

Erfordernisse. 1. Eine Mischung von 99 Teilen Alkohol (95 Vol.-Proz.) und 1 Teil rauchende Salzsäure, in welcher auf 1 Liter 4 g Eisenchlorid aufgelöst sind. 2. 10%ige $BaCl_2$-Lösung.

Ausführung. 5 ccm saurer ikterischer Harn werden mit dem gleichen Volum der Chlorbariumlösung gemischt und kurze Zeit zentrifugiert. Man dekantiert nun die klare über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit, übergiesst den Niederschlag mit 2 ccm des oben erwähnten Reagens, rührt mit einem Glasstäbchen durch und erhitzt zum Sieden. Die über dem Bariumsulfat stehende Flüssigkeit nimmt dabei eine sehr schön grüne oder blaugrüne Färbung an. Setzt man Salpetersäure (gelbe) hinzu, so geht die blaue Farbe in violett und rot über.

[1]) Schreck, Monatshefte f. prakt. Tierheilk. 21. 243. 1909.
[2]) W. Macadie, Pharmaceutical Journ. [4] 26. 686. 1908.
[3]) Tuz, Wratschebnaja Gazetta 1908. Nr. 7; Jahresber. f. Tierch. 38. 329. 1908.
[4]) M. Nakayama, Zeitschr. f. physiol. Ch. 36. 398. 1902.

Digitized by Google

Die Probe ist nach Nakayama schärfer wie die Huppert-Salkowskische Probe. Bei einem Bilirubingehalt von 1:200000 war die letztere nur mehr schwach, bei 1:600000 negativ, während die Probe von Nakayama bei 1:1000000 noch positiv war. Schippers gibt die Empfindlichkeitsgrenze zu 1:700000 an. Die Reaktion wäre also der Probe von Salkowski überlegen und etwa gleichwertig der Probe von Steensma-Schippers[1]).

v. Maslow[2]) setzt zu dem nach Nakayama gewonnenen Niederschlag Alkohol, der 1 % Salpetersäure (spez. Gew. 1,2) enthält, dann 4—5 Tropfen Wasserstoffsuperoxyd und erhitzt dann zum Kochen. Sowie die Flüssigkeit siedet, wird sie dunkelblau-grün. Beim Stehen setzt sich ein grüner Niederschlag ab, der Spiritus über ihm ist dunkelblau. Die Farbe hält sich wochenlang.

g) Verfahren nach Steensma-Schippers.

10 ccm unfiltrierter Harn werden zuerst mit 10 Tropfen Sodalösung (20 g krystallisierte Soda in Wasser gelöst und auf 100 ccm aufgefüllt), dann mit 20 Tropfen Calciumchloridlösung (20 g $CaCl_2$ in Wasser gelöst auf 100 ccm aufgefüllt) versetzt. Der Niederschlag wird auf einem gehärteten Filter gesammelt und mit Wasser mehreremal ausgewaschen. Falls der Niederschlag vollkommen farblos ist, fehlt Gallenfarbstoff vollständig. — Ist der Niederschlag gelblich, so wird er vom Filter abgekratzt und im Porzellanschälchen unter Umrühren mit einem Glasstab in 3 ccm Salzsäurealkohol gelöst. — Der Salzsäure-Alkohol besteht aus 5 ccm 38%iger Salzsäure und 95 ccm 96%igem Alkohol. — Ein Tropfen $^1/_2$%ige Natriumnitritlösung ruft nunmehr, falls Gallenfarbstoff vorhanden war, einen grünen Farbenton hervor.

Die Fällung von Calciumcarbonat enthält gewöhnlich neben Gallenfarbstoff geringe Mengen Urobilin. Bei urobilinreichen Harnen kann die Fällung sogar rötlich sein. Durch Auswaschen lässt sich das Urobilin leicht entfernen.

Man filtriere den Harn nicht, da das Filtrierpapier Gallenfarbstoff zurückhält. Stark trüber Harn kann eventuell durch Zentrifugieren geklärt werden. Falls im Harn ein Sediment von Calciumcarbonat vorhanden sein sollte, ist dies natürlich bei der Prüfung mit zu benutzen, da dasselbe schon Gallenfarbstoff mitgerissen hätte.

Nach Schippers[3]) gestattet diese Modifikation den Nachweis von 1:700000 Bilirubin im Harn. Die Probe wäre schärfer wie die von Salkowski.

Biffi[4]) versetzt 150—200 ccm Harn mit $BaCl_2$ und Schwefelsäure. Der Niederschlag wird durch Dekantieren abgetrennt und auf einer etwa talergrossen Lage entfetteter Watte, die auf einer Glasplatte liegt, ausgebreitet. Der flüssige Teil wird von der Watte aufgesogen; in das Zentrum des noch feuchten Niederschlages bringt man ein linsengrosses Krystall von Kaliumbichromat; es bildet sich dann ein Ring in den Farben der Gmelinschen Reaktion. Die Färbung

[1]) F. A. Steensma, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1909. II. 1567; Biochem. Zeitschr. 8. 208. 1908. — J. C. Schippers, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1908. I. Nr. 7; Biochem. Zeitschr. 9. 241. 1908.

[2]) A. A. v. Maslow, Zeitschr. f. phys. Chem. 74. 297. 1911.

[3]) Schippers, l. c.

[4]) Biffi, Gaz. degli Osped. 1900. 11. Febr. 1901. N. 18. Jahresber. f. Tierch. 30. 334. u. 31. 446. — Tuz, l. c.

Digitized by Google

hält sich mehrere Tage lang. Bei den grossen Harnmengen, die zur Verarbeitung gelangen, ist natürlich die Genauigkeit auch eine grosse. (Nach Tuz = 1:500000).

Ausser diesen, auf der Mitfällung bei Erzeugung von Ca- bzw. Ba-Niederschlägen beruhenden Reaktionen sind noch eine ganze Anzahl von Fällungsreaktionen vorgeschlagen. Ein praktisches Bedürfnis nach anderen solchen Reaktionen liegt kaum vor.

2. Durch Extraktion mit Chloroform.

Mittels Chloroform lässt sich aus dem Harn der Gallenfarbstoff entweder direkt, oder aus dem Abdampfungsrückstand, oder aus einem den Farbstoff enthaltenden Niederschlag darstellen. Um nicht andere in Chloroform lösliche Farbstoffe mit dem Bilirubin zu verwechseln, empfiehlt es sich, mit dem Chloroformauszug noch Reaktionen anzustellen.

a) Bei heftigem Schütteln mit dem Harn bildet das Chloroform aber eine Emulsion, in welcher die Chloroformtröpfchen nur sehr schwer wieder zusammenfliessen, und in einer solchen lässt sich wegen der Zwischenlagerung des gefärbten Harnes nicht sicher erkennen, ob auch das Chloroform gefärbt ist. Ultzmann empfiehlt daher, 100 ccm Harn mit 10 ccm Chloroform in einem Fläschchen nur hin und her zu stürzen. Man verschliesst dann das Fläschchen mit dem Daumen, kehrt es um und lässt das Chloroform in ein Reagenzglas ausfliessen. — Nach Neumeister [1]) soll man den Harn nach Zusatz von Essigsäure mit Chloroform und so viel Alkohol schütteln, dass sich das Chloroform vollständig löst und die Mischung darauf (in einem Scheidetrichter, ohne stark zu schütteln) mit (zwei Volumen) Wasser verdünnen. Das Chloroform, welches den Gallenfarbstoff aufgenommen hat, setzt sich in Form einer Emulsion ab. Man zerstört diese dadurch, dass man sie ablässt, mit Alkohol bis zur Lösung des Chloroforms versetzt, die Lösung von in ihr suspendierter flockiger Substanz abfiltriert und das Chloroform wieder durch Zusatz von Wasser zur Abscheidung bringt. Es ist anfangs trüb, wird aber bald klar. Das Chloroform, mit welchem man normalen Harn behandelt hat, ist gelb oder bräunlich gefärbt (von Urobilin), auch schön goldgelb, so dass aus der Farbe der Lösung allein nicht auf die Anwesenheit von Bilirubin geschlossen werden kann.

Fügt man einem solchen (gelben) Chloroformauszug aus ikterischem Harn einige Tropfen Salpetersäure zu, so färbt er sich nacheinander grün, blau, violett und schmutzig rot. Das Grün tritt dabei aber nur spurenweise auf und verschwindet schnell wieder. Ein beständiges Grün erhält man aber nach Gerhardt [2]), wenn man den Chloroformauszug mit (ozonhaltigem) Terpentinöl versetzt und die Mischung mit wenig verdünnter Kalilauge übergiesst; der Gallenfarbstoff verwandelt sich dabei alsbald in Biliverdin, welches von der übergeschichteten Kalilösung aufgenommen wird. — Man kann sich auch des folgenden, gleichfalls von Gerhardt angegebenen Verfahrens bedienen, das aber grössere Vorsicht erheischt. Der Chloroformauszug wird mit einer geringen Menge sehr verdünnter (ganz hellgelber) Jod-Jodkaliumlösung geschüttelt; es darf nur so wenig Jod vorhanden sein, dass sich das Chloroform kaum rot färbt. Fügt man dann etwas Kalilauge zu, so entfärbt sich das Chloroform und die Lauge wird grün. Urobilin gibt diese Reaktion nicht; dieses ist daran kenntlich, dass die Chloroformlösung nach dem Verdünnen mit Alkohol auf Zusatz einer Spur alkoholischer Chlorzinklösung eine schöne grüne Fluoreszenz annimmt (S. 1382).

[1]) R. Neumeister, Lehrbuch d. physiol. Ch. 2. 377. 1895.
[2]) C. Gerhardt, Sitzungsber. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg 1881. 25.

Digitized by Google

Nach Schwanda[1]) verdampft man den Harn im Wasserbade zur Trockne, zieht den Rückstand mit Wasser aus, filtriert, wäscht aus, trocknet und zieht das in Stücke zerschnittene Filter in der Wärme wiederholt mit Chloroform aus. Die erhaltene goldgelbe Lösung prüft man direkt mit Salpetersäure oder Bromwasser auf Bilirubin.

b) Sarcinelli[2]) schüttelt die ganze Menge Gallenfarbstoff mit Chloroform aus, wäscht dann dieses mit Schwefeläther und lässt den Äther in einer Porzellanschale verdunsten. Geringe Spuren von Gallenfarbstoffen geben dann mit einem Tropfen Salpetersäure (welche etwas salpetrige Säure enthält) die bekannten farbigen Ringe.

c) Nach Boni[3]) werden in einem Reagenzglas einige Kubikzentimeter Chloroform mit ca. 15 ccm Harn stark geschüttelt, wobei das Chloroform je nach dem grösseren oder geringeren Gehalt an Gallenfarbstoffen eine intensiv oder schwach gelbe Farbe annimmt. Hiernach wird der Harn vorsichtig abgegossen und das mit wenigen Tropfen Harn zurückbleibende Chloroform auf zwei enge Reagenzgläser verteilt. Die eine Hälfte dient zur Kontrolle, während zu der anderen 1 Tropfen reiner Essigsäure, hierauf 2 Tropfen folgender Lösung: Kaliumnitrit 0,25 g, Alkohol 50 g, hinzugefügt werden. Man schüttelt das Reagenzglas, worauf bei Gegenwart von Gallenfarbstoffen die gelbe Farbe des Chloroforms rasch verschwindet, um einer grünen oder weissen Färbung Platz zu machen, welche mit der gelben Farbe des Chloroforms im Kontrollgläschen in ausgesprochenem Kontrast steht. Mit dieser Probe sollen sich noch 0,00001 g Bilirubin in 10 ccm Harn nachweisen lassen.

Vitali behandelt die den Gallenfarbstoff enthaltenden Niederschläge mit Chloroform und setzt Alkohol zu bis zur Lösung des Chloroforms; beim Vermischen mit Wasser scheidet sich dann das bilirubinhaltige Chloroform ab.

Aus dem Kalkniederschlag lässt sich durch Ansäuern mit Salzsäure und Schütteln mit Chloroform Bilirubin gewinnen, das durch Verdunsten des Chloroforms krystallisieren kann (Vossius, Stadelmann)[4]).

III. Zum Nachweis des in Uratsedimenten oder in durch Säuren erzeugten Harnsäureniederschlägen enthaltenen Gallenfarbstoffes löst man die Niederschläge in kohlensaurem Natron und prüft auf Bilirubin.

IV. Nachweis der einzelnen Gallenfarbstoffe.

a) Bilirubin lässt sich durch die Ehrlichsche Diazoreaktion (C. I. 5.) im Harn erkennen und mittels Chloroform (C. II. 2.) isolieren.

b) Im Harn enthaltenes Biliprasin gibt sich leicht dadurch zu erkennen, dass sich der Harn auf Zusatz einer Säure (Salzsäure) grün färbt, intensiver bei

[1]) Schwanda, Wiener med. Wochenschr. 38 u. 39. 1865; Zeitschr. f. analyt. Ch. **6**. 501.

[2]) F. Sarcinelli, Policlinico. Sez. pathol. Anat. **16**. 1078. 1909.

[3]) J. Boni, L'Ospedale Maggiore, Dec. 1907.

[4]) A. Vossius, Archiv f. exper. Pathol. **11**. 441. — E. Stadelmann, Ebenda **16**. 128.

Digitized by Google

schwachem Erwärmen. Die Probe ist aber nur dann beweisend, worauf Karplus[1]) aufmerksam macht, wenn der Harn frei ist von Nitriten, was bei Harnen, welche einige Zeit gestanden haben, selten der Fall ist. Auch ganz frische Harne können schon Nitrite enthalten.

c) Das Cholecyanin lässt sich nur auf spektralanalytischem Wege (B. e. 5.) im Harn nachweisen.

d) Der Nachweis des Choletelins kann gleichfalls nur mit dem Spektroskop geführt werden (B. f. 3.). Man sieht nach Heynsius[2]) den Streifen γ nicht immer direkt im Harn, aber auf Zusatz von Säure kommt er zum Vorschein. Macht man den sauren Harn darauf mit Kali oder Natron alkalisch, so ist der Streifen δ gewöhnlich sogleich sichtbar, bisweilen ist aber noch der Zusatz von Chlorzink erforderlich, namentlich dann, wenn der Harn von Ammoniak alkalisch reagiert. — Man hat sich vor Verwechslungen des Choletelins mit dem Urobilin zu hüten. — Eine vorhergehende Fällung etwa gleichzeitig vorhandenen Gallenfarbstoffes mit Bleizucker dürfte sich empfehlen.

Eine äusserliche Ähnlichkeit mit ikterischem Harn besitzt solcher, welcher nach dem Gebrauch von Rheum, Senna und Santonin entleert wird (siehe dort). Dieser Harn ist gelb oder grünlich gelb; er kann aber mit ikterischem nicht verwechselt werden, weil er auf Zusatz von Alkalien rot wird und beim Ansäuern die ursprüngliche Farbe wieder annimmt.

D. Bestimmung des Bilirubins.

1. Titrimetrisch nach Jolles.

Zur annähernd quantitativen Bestimmung des Bilirubins hat Jolles[3]) das Titrieren desselben mit Jod in Vorschlag gebracht. Später hat er mit einigen Modifikationen das Verfahren auch zur genauen Bestimmung empfohlen.

Das Verfahren beruht darauf, dass sich Bilirubin unter der Einwirkung von alkoholischer Jodlösung allmählich in eine grüne Verbindung verwandelt, sehr wahrscheinlich nicht ein Oxydationsprodukt, wie Jolles meint, sondern ein Substitutionsprodukt (S. 1348). Bis zur völligen Überführung dieser Substanz werden auf 1 Mol. Bilirubin annähernd 4 At. Jod verbraucht[4]).

a) Das neuere Verfahren.

10 ccm gallenfarbstoffreicher Harn (20 ccm bei gallenfarbstoffarmem Harn) werden in einen Schüttelzylinder gebracht, der am Boden eine birnenförmige Gestalt und ein möglichst kurzes Ausflussrohr besitzt. Man setzt 20 ccm Chloroform, 10 ccm 10%ige $BaCl_2$-Lösung und

[1]) J. P. Karplus, Zentralbl. f. klin. Med. 14. 577. 1893.

[2]) Heynsius, Pflügers Archiv 4. 456.

[3]) A. Jolles, Wiener med. Wochenschr. Nr. 20 u. 21. 1894; Zeitschr. f. physiol. Ch. 27. 83. 1899; Wiener med. Wochenschr. 1899. 1097; Monatshefte f. Ch. 20. 282. 1899. etc.

[4]) A. Jolles, Pflüger's Archiv 57. 1. 1894.

Digitized by Google

50 ccm Salzsäure (1:5) zu und schüttelt mehrere Minuten lang. Dann lässt man 15 ccm der Chloroformlösung in einen geeichten Standzylinder (25 cm hoch und 3 cm weit) ab, lässt die im Ausflussrohr zurückgebliebenen Chloroformtropfen durch Umdrehen des Schüttelapparates und Öffnen des Hahns zurückfliessen, bringt abermals 15 ccm Chloroform zum Harn, schüttelt wieder und lässt nunmehr 12 ccm Chloroform ab. Dann wird noch ein drittes Mal mit 10 ccm Chloroform geschüttelt und 8 ccm abgelassen. Nunmehr soll alles Bilirubin extrahiert sein. — Das Chloroform wird in dem Standzylinder mit je 30 ccm Salzsäure (1:1) zweimal gewaschen, um Spuren von anhaftendem Harn zu entfernen, indem man wiederholt umrührt. Die Salzsäure wird beidemale bis auf ca. 5 ccm abpipettiert oder abgehebert, dann wird der Inhalt des Standzylinders in eine Stöpselflasche gebracht, der Zylinder zweimal mit je 25 ccm Alkohol nachgewaschen. Hierauf setzt man 10 ccm $n/_{100}$ Hüblsche Jodlösung (0,64 g Jod in 250 ccm 95%igem reinem Alkohol gelöst; 0,8 g $HgCl_2$ in 250 ccm Alkohol gelöst und eventuell filtriert; beide Lösungen werden vereinigt und können nach 10 stündigem Stehen gebraucht werden) hinzu, schüttelt etwa 5 Minuten öfters durch, setzt dann etwa 5 ccm 10%ige Jodkaliumlösung, 5 ccm Stärkelösung und 100 ccm destilliertes Wasser hinzu, schüttelt einige Male kräftig durch. Durch Zusatz der Stärke entsteht keine Blaufärbung, sondern eine rotbraune Färbung, die nach starkem Verdünnen mit Wasser in Blauviolett übergeht. Nunmehr wird mit Thiosulfat $n/_{100}$ zurücktitriert, bis die über dem Chloroform stehende, rotbraune Flüssigkeit nach jeweiligem Zusatz von Thiosulfat, Durchschütteln und Absitzenlassen vollkommen entfärbt erscheint. Jolles will so genau arbeiten, dass der Fehler „höchstens ca. 0,1 ccm einer ca. $^1/_{100}$n $Na_2S_2O_3$-Lösung" beträgt. Die Ausführung erfordert 1—$1^1/_2$ Stunden.

1 ccm $^1/_{100}$n Jodlösung = 0,00144 g Bilirubin.

Kontrollbestimmungen von Jolles ergaben eine grosse Genauigkeit. Trotzdem sind Zweifel an der Brauchbarkeit der Methode angebracht (Schulz).

b) Das ursprüngliche Verfahren.

Das Bilirubin wird aus dem Harn durch Zusatz von Chlorbarium und Chloroform in einem eigens gestalteten Schütteltrichter abgeschieden. Derselbe ist cylindrisch, unmittelbar über dem Hahn zu einer Kugel aufgeblasen, auf welcher der übrige cylindrische Teil aufsitzt. Die Kugel trägt in ihrer Mitte eine Marke für 5, am oberen Ende eine solche für 10 ccm. Der Cylinder ist (überflüssigerweise) von 20—60 ccm in ccm geteilt. Über der obersten Marke befindet sich noch ein ungefähr 60 ccm fassender freier Raum. Der Apparat ist a. a. O. abgebildet und kann von Lenoir und Forster, Wien IV, Waaggasse, bezogen werden.

In den Cylinder kommen 5 ccm Chloroform, 5—25 ccm filtrierter Harn, 10 ccm 20%ige Chlorbariumlösung, 2 ccm 2%ige Schwefelsäure und bis zur Marke für 50 ccm Wasser. Es wird dann 5 Minuten lang tüchtig geschüttelt, und nachdem sich das Chloroform mit dem Niederschlag abgesetzt hat, dieses bis auf einen

Digitized by Google

kleinen Rest in ein Kölbchen von 200 ccm Fassungsraum abgelassen. Man schüttelt noch 2 mal mit je 5 ccm Chloroform und lässt es wieder abfliessen, die letzte Portion vollständig, aber ohne Harn.

Zu dem Chloroform lässt man dann unter fortwährendem Umschwenken eine alkoholische $^1/_{100}$-n Jodlösung (mit 1,27 g Jod im Liter) hinzufliessen, bis die Flüssigkeit grün geworden ist, und setzt dann einige Kubikzentimeter frische Stärkelösung hinzu. Tritt Blaufärbung ein, so titriert man mit $^1/_{100}$-n auf die Jodlösung gestellte Thiosulfatlösung zurück bis zu reinem Grün. Färbt sich die Flüssigkeit auf Zusatz der Stärkelösung nicht blau, so setzt man noch Jod bis zur Blaufärbung zu und titriert dann auch zurück. — 1 ccm $^1/_{100}$-n Jodlösung zeigt 1,44 mg Bilirubin an.

Wenn mehr als 10 ccm Jodlösung verbraucht werden, soll man den Versuch mit weniger Harn wiederholen, weil in der stark grün gefärbten Flüssigkeit das Blau der Jodstärke schwer zu erkennen ist. Von stark ikterischem Harn nimmt man daher gleich nur 5, höchstens 10 ccm.

100 ccm normaler oder pathologischer, nicht ikterischer Harn verbrauchen bei diesem Verfahren 0—0,8 ccm der Jodlösung.

2. Gewichtsanalytisch nach Stadelmann.

Stadelmann[1]) hat sich des folgenden, mit grossen Verlusten verbundenen Verfahrens bedient (vgl. S. 1366). Der Harn wird mit Kalkmilch ausgefällt, der Niederschlag gewaschen, bis die Flüssigkeit farblos abläuft, etwas getrocknet und in einer mit einer Kältemischung abgekühlten Reibschale mit Salzsäure bis zu schwach alkalischer Reaktion versetzt. Der Niederschlag wird wieder gewaschen, bis das Filtrat farblos ist, getrocknet, gepulvert und mit Chloroform unter sehr vorsichtigem Zusatz von Salzsäure extrahiert, zuletzt in der Wärme. Man destilliert das Chloroform ab, wäscht den Rückstand mehrmals mit Äther und krystallisiert das Bilirubin aus Chloroform um. Die reine Substanz wird getrocknet und gewogen.

3. Kolorimetrische Bestimmung nach Bouma[2]).

I. Prinzip. Die Methode beruht darauf, dass zunächst das Urobilin entfernt wird, sodann wird das Bilirubin zu Biliverdin oxydiert und das Biliverdin kolorimetrisch bestimmt.

II. Erforderliche Lösungen. 1. 20%ige Lösung von Calciumchlorid.

2. 1,5 g festes Eisenchlorid werden in 1 Liter Salzsäure (spez. Gew. 1,250) gelöst und hiervon 1 ccm mit 4 ccm absolutem Alkohol vermischt.

3. Standardlösungen von 10—100 mg Biliverdin pro Liter normalen Harn. Der Apparat mit diesen Standardröhrchen ist bei D. B. Kagenaar in Utrecht zum Preise von 10 Mk. zu haben.

---

[1]) E. Stadelmann, Arch. f. exper. Path. 16. 128. 1883.
[2]) J. Bouma, Deutsche med. Wochenschr. 30. 881. 1904.

Digitized by Google

III. Ausführung. 10 ccm sauer reagierenden, frischen, klaren Harn mischt man mit 2 ccm 20%iger Chlorcalciumlösung und stumpft die saure Reaktion mit verdünntem Ammoniak tropfenweise bis zur nahezu neutralen Reaktion ab. Die Reaktion darf nicht alkalisch werden. Der entstandene Niederschlag wird abzentrifugiert, die klare Flüssigkeit, die man auf Urobilin untersuchen kann, abgegossen und der Niederschlag in destilliertem Wasser aufgeschwemmt. Es wird dann nochmals zentrifugiert, bis der Niederschlag fest am Boden sitzt, so dass man das Waschwasser ohne Verluste ganz abgiessen kann. Nunmehr wird der Niederschlag in 5 ccm des Reagens aufgenommen und in eine Eprouvette gegossen. Man wartet nun, bis die Farbe mit der der Standardröhrchen in bezug auf den Ton übereinstimmt, und stellt es zwischen die beiden Röhrchen, denen es in bezug auf die Farbenintensität am meisten gleicht, und liest den Gehalt an Gallenfarbstoff direkt ab.

Ist der Gehalt des Harns grösser wie 100 mg, so verdünnt man den zu untersuchenden Harn mit normalem Harn und wiederholt die Probe Man soll nicht mit Wasser verdünnen, um nicht die zum Fällen des Gallenfarbstoffes erforderlichen Phosphate zu verringern.

VII. Urobilin und Urobilinogen.

I. Urobilin.

A. Vorkommen. Das Urobilin ist zuerst von Jaffé[1]) direkt aus Harn dargestellt worden; dieses besitzt die unten beschriebenen Eigenschaften.

Saillet[2]) hat aus dem Chromogen des Urobilins sein α-Urobilin gewonnen, das in einigen Punkten, namentlich in spektroskopischer Hinsicht von dem Urobilin Jaffés abweicht; aus dem α-Urobilin lässt sich das dem Jafféschen Urobilin ähnliche, aber mit dem Urobilin von Jaffé nicht völlig übereinstimmende β-Urobilin darstellen.

Mac Munn unterscheidet drei verschiedene Urobiline, das normale, das febrile, später pathologisches genannt, und das intermediäre, welches nach seinen Eigenschaften zwischen beiden steht. Das febrile Urobilin, welches Mac Munn irrtümlicher Weise als identisch mit dem typischen Urobilin von Jaffé erklärt, ist wesentlich als ein Gemenge von viel Urobilin mit wenig Hämatoporphyrin erkannt worden, ebenso wie sein Urohämatin, oder nach späterer Bezeichnung Urohämatoporphyrin, ein Gemenge derselben Farbstoffe mit Vorwiegen des Hämatoporphyrins darstellt. Das normale Urobilin von Mac Munn besitzt dieselben spektroskopischen Eigenschaften wie das von Jaffé, ist aber nach seiner Bildungsweise durch Oxydation aus Hämatin (in schwefelsäurehaltigem Alkohol durch Wasserstoffsuperoxyd) nicht als Urobilin aufzufassen, sondern steht dem

[1]) M. Jaffé, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1868. 243; 1869. 177; Virchows Archiv 47. 405. 1869.

[2]) Saillet, Revue de méd. 17. 114. 1897.

Digitized by Google

Choletelin nahe, wenn es nicht geradezu als identisch mit ihm bezeichnet werden muss. Garrod und Hopkins [1]) betrachten das pathologische Urobilin von Eichholz als ein Gemenge von Urobilin mit Urorosein, allein der von Eichholz neben dem Band des Urobilins beschriebene Streifen kann bei seiner Lage von D 64 E bis D 96 E nicht der des Uroroseins gewesen sein, sondern eher γ des sauren Hämatoporphyrinspektrums.

Dem Urobilin ähnliche Körper hat man auf verschiedene Weise durch Reduktion aus anderen tierischen Farbstoffen dargestellt. Maly erhielt einen solchen Körper bei der Einwirkung von Natriumamalgam auf Biliverdin und Bilirubin: das Hydrobilirubin, angeblich $C_{32}H_{40}N_4O_7$, Hoppe-Seyler einen solchen bei der Reduktion von Hämatin und Hämoglobin durch Zinn und Salzsäure, wobei sich zuerst Hämatoporphyrin bildet, ferner beim Schmelzen von Sauerstoff-Hämoglobin, aber nicht von Hämatin mit Kaliumhydrat, Nencki und Sieber durch Behandeln von Hämatoporphyrin mit Zinn und Salzsäure, Garrod [2]) bei der Einwirkung von Aldehyd auf reines Urochrom.

Diese Produkte gleichen sich vor allem in bezug auf die Absorption im Blau des Spektrums und die Fluorescenz; ob sie aber trotzdem untereinander und mit dem Urobilin des Harns identisch sind, ist fraglich. So haben Nencki und Sieber beobachtet, dass der Farbstoff aus Hämatoporphyrin beim Stehen an der Luft viel schneller die Fluorescenz und den Absorptionsstreifen verliert, als der Stoff aus Bilirubin bei gleicher Konzentration.

Bei zu langer Einwirkung des Reduktionsmittels wird auch der Farbstoff, welcher das Spektrum des Urobilins besitzt, in einen farblosen Körper, Urobilinweiss, übergeführt. Sehr oft hat man auch beobachtet, dass in einer Lösung, an welcher nur der Urobilinstreifen wahrnehmbar war, beim Stehen derselben an der Luft wieder das Spektrum des Hämatoporphyrins auftrat, während das, wie u. a. le Nobel, sowie Eichholz [3]) angeben, bei dem Urobilin aus Harn nicht der Fall ist. Wiewohl offenbar Urobilin durch eine reduzierende Gärung im Darm aus Bilirubin entsteht, erscheint es verfrüht, das Urobilin ohne weiteres mit dem Hydrobilirubin zu identifizieren.

Die Substanz, welche zuerst Fr. Müller durch anärobe Gärung von Bilirubin mit Kotbakterien (in Peptonlösung unter Wasserstoffabschluss) und später Ad. Schmidt, Beck, Esser in ähnlicher Weise aus Gallenfarbstoff erhielten, ist wohl ohne Zweifel als Urobilin anzusehen. Fischler erhielt aus reinen Bilirubinlösungen in Bouillon Urobilin durch Fäulniserreger (Proteus, Coli), auch bei Luftzutritt. Thomas [4]) erhielt bei Wiederholung der Müllerschen Versuche mit einem Bakterium aus Galle aus Bilirubin nur Urobilinogen.

Die dem Choletelin (s. S. 1353 f. 1.) ähnlichen oder mit ihm identischen Oxydationsprodukte des Hämatins (s. S. 1318 B. 7.) und

[1]) Ch. A. Mac Munn, Proceed. Roy. Soc. 31. 26 u. 206; Jahresber. f. Tierch. 1881. 211; Ber. d. chem. Gesellsch. 14. 1212. 1881; Journ. of Physiol. 6. 34 ff. 1885; 10. 73 u. 95. 1889. — Eichholz, Journ. of Physiol. 14. 326. 1893. — A. E. Garrod und F. G. Hopkins, Ebenda 20. 134. 1896.

[2]) R. Maly, Ann. d. Ch. u. Pharm. 163. 77. 1872. — F. Hoppe-Seyler, Ber. d. chem. Gesellsch. 7. 1065. 1874; Zeitschr. f. physiol. Ch. 13. 117. 1889. — Nencki und Sieber, Monatshefte f. Ch. 9. 128; Arch. f. exper. Pathol. 24. 442. — A. E. Garrod, Journ. of Physiol. 21. 190. 1897.

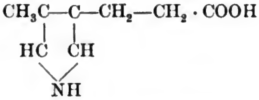
[3]) le Nobel, Pflügers Archiv 40. 516. 1887. — Eichholz, Journ. of Physiol. 14. 331.

[4]) Friedrich Müller, Siebzigster Jahresbericht d. Schlesischen Gesellsch. f. vaterl. Kultur 1892, Med. Abteilung 1. — Ad. Schmidt, Verhandl. d. 13. Kongr. f. inn. Med. 1895. 320. — A. Beck, Wiener klin. Wochenschr. 1895. 617. — Esser, Dissert. Bonn 1896. — F. Fischler. Hab.-Schrift Heidelberg 1907. 90. S. m. 1 Taf. K. Thomas, Diss. Freiburg 1907. 7.

Digitized by Google

des Bilirubins besitzen nicht nur dasselbe Absorptionsspektrum wie das Urobilin, sondern auch noch andere charakteristische Eigenschaften desselben. Ob das Hydrobilirubin mit dem Urobilin identisch ist, erscheint noch fraglich. Garrod und Hopkins leugnen das bestimmt, da ein Hydrobilirubinpräparat 9,45% N enthielt, während das Urobilin nur 4,02—4,90% N enthält. Wie aus den zu besprechenden Untersuchungen von Charnas hervorgeht, sind die früher analysierten Präparate sicher unrein gewesen. Charnas[1]) fand für ein Urobilin (aus Urobilinogen) 8,05% N. Die Frage ist nicht entschieden.

Nach den Untersuchungen von Fischer[2]) hat das aus Bilirubin gewonnene Hydrobilirubin tatsächlich den Stickstoffgehalt, den Maly ihm zuschreibt (9,06—9,32%), dagegen weicht sein Präparat in bezug auf den Kohlenstoffgehalt erheblich von den von Maly angegebenen Zahlen ab. Nach einem besonderen Verfahren unter vollständigem Luftabschluss erhielt Fischer aus Bilirubin durch Reduktion einen Stoff, den er Hemibilirubin nennt, da er ihn in etwa 47% Ausbeute bekam. Diesem Hemibilirubin schrieb er die Formel $C_{16}H_{20}N_2O_3$ zu; er hielt dasselbe mit dem Harnurobilin für identisch und glaubt, dass es ein Anhydrit der Säure



sei (s. später S. 1377 und 1407). Neben diesem Hemibilirubin entsteht eine bisher nicht genauer definierbare „Substanz II".

Aus Kot konnte Fischer dagegen ein „Sterkobilin" isolieren, das im wesentlichen die von Garrod für das Hydrobilirubin angegebene Zusammensetzung hatte.

So unterscheidet sich auch das Urobilin von dem Choletelin durch ein anderes Absorptionsverhältnis in den verschiedenen Spektralbezirken. Die Möglichkeit, dass neben dem Urobilin auch Choletelin im Harn erscheinen könne, was zu einer Verwechslung beider führen würde, lässt sich nicht bestreiten. Ob aber wirklich Choletelin im Harn auftritt, ist nicht entschieden (vgl. S. 1344).

Gegen die Bildung von Choletelin aus Bilirubin im Körper führt Fr. Müller das Fehlen der leicht kenntlichen, bei der Oxydation vor dem Choletelin auftretenden Farbstoffe an und um die Zunahme des „Urobilins" im Harn nach Blutergüssen in die Gewebe zu erklären, liegt nach Müller kein zwingender Grund zu der Annahme vor, der für Urobilin gehaltene Farbstoff sei durch Oxydation aus

[1]) A. E. Garrod und F. G. Hopkins, Journ. of Physiol. 22. 451. 1898. — D. Charnas, Biochem. Zeitschr. 20. 401. 1909 und briefliche Mitteilung.
[2]) H. Fischer, Zeitschr. f. phys. Chem. 73. 204. 1911.

dem Hämatin entstanden, da es immer noch möglich sei, dass die Zerfallsprodukte des Blutes in der Leber in Bilirubin verwandelt werden und dieses dann im Darm gleichfalls der Reduktion anheimfalle.

Andere braune, dem Urobilin in mehrfacher Hinsicht ähnliche, mit ihm nicht identische Farbstoffe sind wiederholt angetroffen worden. In dieser Hinsicht ist es auch nicht überflüssig zu bemerken, dass das Urobilin mit dem braunen Farbstoff verunreinigt sein kann, welcher bei der Einwirkung von Säuren auf Urochrom entsteht.

Nach den einwandfreien Versuchen von Saillet[1]) enthält frisch entleerter, vor Sonnenlicht geschützter normaler Harn kein Urobilin, sondern ein Chromogen desselben, das Urobilinogen, aus welchem das Urobilin erst durch Einwirkung des Sonnenlichts hervorgeht. Es ist aber zweckmässig, unter dem Begriffe Urobilinurie auch die Fälle mit einzubeziehen, bei denen zwar kein Urobilin im frischen Harn erscheint, wohl aber die Urobilinogenmenge vermehrt ist.

Saillet will den Ausdruck Urobilinurie nicht mehr für den Zustand gelten lassen, bei welchem Urobilinogen in grösserer Menge erscheint, sondern für den, bei welchem fertig gebildeter Farbstoff ausgeschieden wird.

Der Gehalt des normalen Harns an Urobilinogen ist gering. Eine saure Urobilinlösung von der Farbe des Harns zeigt nach Garrod und Hopkins[2]) ein sehr kräftiges Absorptionsband, während eine Lösung von solcher Konzentration, dass sie ein so schwaches Band zeigt, wie der Harn nur manchmal, bloss eine ganz schwache rosenrote Färbung aufweist.

In der Tagesmenge Harn eines Gesunden finden sich nach den Untersuchungen von Fr. Müller und D. Gerhardt[3]) Spuren bis 20 mg (im Mittel aus 5 Bestimmungen 12,3 mg), nach Saillet 30 bis 130 mg, nach G. Hoppe-Seyler 80—140 mg. Der Unterschied erklärt sich wohl daraus, dass Saillet vor der Bestimmung alles Urobilinogen in Urobilin verwandelte, Müller und Gerhardt dagegen nicht. Im Hungern ist die Urobilinogenausscheidung gering. Während der Menstruation steigt sie sowohl beim hungernden als auch beim normal ernährten Individuum (Tsuchiya)[4]).

Sicher nachgewiesen ist seine Bildung im Darm aus Gallenfarbstoff durch die Einwirkung reduzierender Mikroben (s. vorher); seine Menge nimmt mit der Darmfäulnis zu (Harley); es tritt daher nach Fr. Müller im Harn Neugeborener, wegen Mangels an Bakterien im Darm

[1]) Saillet, Revue de méd. 17. 114. 1897.

[2]) A. E. Garrod und F. G. Hopkins, Journ. of Physiol. 20. 123. 1896.

[3]) Fr. Müller a. a. O. — D. Gerhardt, Über Hydrobilirubin. Diss. Berlin 1889. — G. Hoppe-Seyler, Virchows Archiv 124. 30. 1891.

[4]) Tsuchiya, Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap. 7. 352. 1910.

Digitized by Google

derselben. erst am 3. Tage nach der Geburt auf, fehlt bei Erwachsenen bei vollständigem Verschlusse der Gallenwege (bei Carcinom der Gallenblase oder des Pankreas, bei Icterus catarrhalis) und tritt erst, wie nach Beck[1]) in der Galle, bei Erguss von Gallenfarbstoff in den Darm wieder auf.

Reichlicher findet es sich bei Infektionskrankheiten, namentlich solchen, welche mit schnell eintretender Anämie verbunden sind (Cazeneuve, Müller), bei Blutergüssen in die Gewebe (Kunkel), auch bei gleichzeitigem Verschluss des Gallengangs (Gerhardt), sowie bei Gegenwart von Methämoglobin im Blutplasma (Hayem)[2]), daher nach der Einwirkung von Blutgiften.

Im Harn der Pferde wurde das Urobilin vermisst, in dem der Kaninchen findet es sich nicht oder nur in geringerer Menge (Beck, Steensma[3]) u. a.); Verfütterung von Hundegalle an Kaninchen ruft aber Urobilinurie hervor; im Harn von Hunden und Katzen kommt es nach Fr. Müller nicht vor. Auch Beck sowie Harley fanden im Harn der Hunde kein Urobilin.

Bei gesunden Winterfröschen geht per os aufgenommenes Urobilin nicht oder nur in kleinen Mengen in den Harn über. Nach Leberexstirpation tritt sofort reichlich Urobilin nebst Bilirubin in den Harn über (Lesieurs, Monod und Morel)[4]).

Nach Morel[5]) enthält beim normalen Menschen der Harn im Sommer Urobilin, aber nicht im Winter. Dies soll von einer Abnahme der Intensität des Stoffwechsels im Sommer herrühren. Heftige Muskeltätigkeit (entsprechend 200—300 Kal. per Stunde) bringt im Sommer die Urobilinurie zum Verschwinden.

Auch in Uratsedimenten ist das Urobilin aufgefunden worden, in den roten neben Uroerythrin. Das Urobilin lässt sich nach Riva sowie nach Garrod aus den Sedimenten mit Alkohol oder Neutralsalzlösung (Salmiak) wegwaschen. Aus Urobilinlösung fällt die Harnsäure nach Garrod[6]) ungefärbt.

Im nüchternen Zustand ist die Urobilinausscheidung nach F. Grimm[7]) gering, sie hebt sich erst und kann bedeutend werden von der zweiten Stunde nach der Mahlzeit an. Nach Saillet schwankt die Urobilinmenge mit der Tages-

[1]) D. Gerhardt a. a. O. — O. Harley, Brit. Med. Journ. Oct. 1896. — A. Beck, Wiener klin. Wochenschr. **35**. 1895. 617; Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1895. 926.

[2]) P. Cazeneuve, Gaz. méd. de Paris 22. 1877. — A. Kunkel, Virchows Archiv **79**. 455. — Gerhardt, Zeitschr. f. klin. Med. **32**. 303. 1897. — G. Hayem, Compt. rend. **102**. 700. 1886.

[3]) F. A. Steensma, 12. Neederl. Kongr. f. Natur- u. Geneesk. 384. 1909.

[4]) Lesieurs, Monod u. A. Morel, Compt. rend. soc. biol. **64**. 574. 1908.

[5]) Morel, Bull. soc. chim. de France [4] **3**. 886. 1908.

[6]) A. Riva, Gaz. med. di Torino **43**. 1. 1892. — A. E. Garrod, Journ. of Physiol. 17. 441. 1895; Proceedings of the Roy. Soc. **55**. 405. 1894.

[7]) F. Grimm, Virchows Archiv **132**. 269. 1893.

Digitized by Google

zeit, und hier namentlich mit der Körpertemperatur gleichsinnig. Die Hauptmahlzeit hat einen steigernden Einfluss. In acht Nachtstunden wurde ausgeschieden 3,2 und 8,8 mg, in 16 Tagesstunden 28,9 und 79,3 mg. Die geringeren Mengen wurden im Harn einer Frau, die grösseren im Harn eines Mannes gefunden. Der normale Harn enthielt 10 mal soviel Urobilin als Hämatoporphyrin.

Jedesmal nach Behebung einer Gallenstauung ist die Ausscheidung des Urobilins, wegen stärkeren Ergusses von Galle in den Darm, vermehrt (Fr. Müller). Einfache Stuhlverstopfung ist ohne Einfluss auf die Menge des Urobilins, aber bei Typhus ist das der Fall (E. Barqellini) und bei Gebrauch von Opium (Mac Munn). Bei Phosphorvergiftung verschwinden nach A. Riva [1]) Urobilin und Urobilinogen aus dem Harn (und dem Kot) um so vollständiger und anhaltender, je schwerer die Vergiftung ist.

In grosser Menge tritt das Urobilin auf bei atrophischer Leberzirrhose, bei Bleikolik und bei Herzfehlern, hier wegen des oft sehr reichen Gehaltes der Galle an Farbstoff (Pleiochromie). Bei sehr vielen Infektionskrankheiten ist das Urobilin vermehrt gefunden worden (Scharlach, Sepsis, Lymphangitis, Pyämie, akuter Gelenkrheumatismus, Pneumonie, Phthisis, Erysipelas, Malaria, weniger Typhus); ferner bei Blutergüssen (in das Gehirn, unter und in die Haut, die Pleura, das Peritoneum, bei Skorbut, Purpura, Lungeninfarkt) oft lange Zeit. Reichlich erscheint es bei perniciöser Anämie. In leichten Fällen von Hämoglobinämie tritt nach Boeri Urobilin im Harn auf. Von Blutgiften werden genannt das Antifebrin (Mörner, Fr. Müller, Rovighi), das Antipyrin (Rovighi), das Pyrodin (Boeri); nach länger anhaltender Chloroformnarkose beobachteten Kast und Mester Zunahme des Urobilins im Harn. Das bestätigen Dryon, Gautier und Policard [2]), Äthernarkose hat diese Wirkung nicht.

In einem Fall von multiplem melanotischem Sarkom sah Zeller grosse Mengen Urobilin (neben viel Ätherschwefelsäure) abwechselnd mit Melanin auftreten; einen zeitweilig an Urobilin reichen Harn bei melanotischem Sarkom untersuchte auch F. Hoppe-Seyler [3]).

Bei nicht mit fieberhaften Krankheiten komplizierter Nephritis fehlt das Urobilin.

Im allgemeinen ist es nach Riva [4]) da vermehrt, wo auch das Uroerythrin in grösserer Menge auftritt.

Fr. Müller und Gerhardt haben spektrophotometrische Bestimmungen über die Menge des im Harn auftretenden Urobilins ausgeführt. Obwohl sich ein Teil des Farbstoffes in der Form seines Chromogens der Bestimmung entzogen haben mag, gewähren diese Beobachtungen eine Einsicht in die quantitativen Verhältnisse. G. Hoppe-Seyler [5]) ist übrigens auf gewichtsanalytischem Wege zu ähnlichen Ergebnissen gelangt. Müller und Gerhardt haben nicht in allen Fällen die Menge des gefundenen Farbstoffes berechnet, sondern geben nur den Exstinktionskoeffizienten (E.) an; derselbe ist direkt proportional der Konzentration der Farbstofflösung, und die Bestimmung gibt hier nur relative Werte an:

---

[1]) E. Barquellini, Lo sperimentale 1892. 119; Jahresber. f. Tierch. 1892. 538. — Mac Munn, Journ. of Physiol. **6**. 22. — Riva, Il „Segno“ **1**. 5. Maggio 1890.

[2]) G. Boeri, Rivista clinica e terap. Nr. 6. Napoli 1893; Jahresber. f. Tierch. 1894. 670. — K. A. H. Mörner, Zeitschr. f. physiol. Ch. **13**. 13. 1889. — A. Rovighi, Zentralbl. f. klin. Med. **13**. 537. — A. Kast und B. Mester, Zeitschr. f. klin. Med. **18**. 469. — M. Dryon und Cl. Gautier, Compt. rend. soc. biol. **66**. 616. 1909. — M. Dryon, Cl. Gautier, A. Policard, Ebenda **65**. 574. 1908.

[3]) A. Zeller, Archiv f. klin. Chir. **29**. 245. 1883. — F. Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Ch. **15**. 186. 1891.

[4]) A. Riva, Clinica med. di Torino 1894. 9.

[5]) G. Hoppe-Seyler, Virchows Archiv **124**. 30. 1891.

Digitized by Google

	mg im Tage	E.
Gesunde bei gemischter Kost	Spur bis 20,3	Spur bis 0,134
Mehrtägiger Hunger [1]	9,3	0,099
Ernährung mit Milch	20,1	—
Ernährung mit Fleisch	21,6	—
Atrophische Leberzirrhose	426 u. 440	14,30 u. 15,34
Hirntumor	—	12,98
Scharlach	796	7,17 u. 12,01
Perityphlitis *)	2021	—
Bleikolik mit leichtem Ikterus	10,99	4,5
Bleikolik nach dem Ikterus	29,11	—
Puerperale Sepsis	—	4,0

	E.
Pneumonie mit Ikterus	2,06
Pneumonie ohne Ikterus	1,47 u. 3,3
Phthisis	1,68—3,64
Leberkarzinom	1,25—3,52
Erysipelas	1,38
Herzfehler	1,04—2,66
Hypertrophische Leberzirrhose	0,88—2,35
Leberkarzinom, Beginn des Ikterus	10,43
Leberkarzinom, starker Ikterus	0—1,765
Icterus catarrhalis	0—0,174

*) Die Perityphlitis nach Gerhardt [2]) unter dem Gebrauch von Opuim am letzten Fiebertag.

Von neueren Zusammenstellungen seien vor allem die von Hildebrandt und von Fischler [3]) erwähnt.

Nach Fischler tritt Urobilin im Harn bei den verschiedensten Krankheiten zum Teil massenhaft auf. Zweifellos geht die Mehrzahl der fieberhaften Erkrankungen mit Urobilinurie einher, aber Urobilinurie ist kein konstantes Fiebersymptom. Es ist noch fraglich, ob bei den fieberhaften Infektionskrankheiten die Urobilinurie auf Kosten der Temperatursteigerung zu setzen ist. Eine zweite Gruppe von mit Urobilinurie einhergehenden Erkrankungen sind solche mit ausgedehnten Blutungen, sei es traumatischer oder hämorrhagischer Natur. Hierher gehören auch Hämoglobinurie, perniziöse Anämie, schwere Chlorosen, Malaria, Schwarzwasserfieber.

Es ist auffallend, dass bei Hirnhämorrhagien, die, wenn sie nicht direkt zum Tode führen, doch nie sehr ausgedehnt sind, so häufig Urobilinurie eintritt (Fischler). Das stimmt zusammen mit der Tatsache, dass bei Gehirntumoren häufig starke Urobilinurie beobachtet wird (Fischler, Gerhardt) [4]).

[1]) Fr. Müller, auch Virchows Archiv **131.** Suppl. 68. 1893.
[2]) D. Gerhardt, Zeitschr. f. klin. Med. **32.** 303. 1897.
[3]) Hildebrandt, Zeitschr. f. klin. Med. **59.** 351. 1906. — Fischler, l. c. 29.
[4]) D. Gerhardt, Diss. Berlin 1889, sowie Zeitschr. f. klin. Med. **32.** 303. 1897.

Digitized by Google

Eine dritte Gruppe bilden Erkrankungen mit Stauungserscheinungen von seiten der Lunge oder des Herzens. Schweres Emphysem, hochgradige Pleuritiden, schwere Phthisen, schwere Pneumonien lassen Urobilinurie fast nie vermissen. Ebenfalls dekompensierte Herzfehler oder schwere Herzfehler mit Cyanose.

Fischer u. Meyer-Betz[1]) fanden, dass die Pyrrole, welche ein an einem Ringkohlenstoffatom nicht substituiertes H-Atom besitzen, sowohl bei der Zersetzung im Reagenzglas als auch bei Verfütterung an Tiere in Körper übergehen, welche nach den klinischen Proben als Urobilin anzusehen wären. Diese nicht stabilen Pyrrole geben die Ehrlichsche Reaktion mit Dimethylaminbenzaldehyd, die (s. später) als Urobilinogenreaktion aufzufassen ist. Während diese Pyrrole rein kein Spektrum und kein fluoreszierendes Zinksalz besitzen, geben ihre Umsetzungsprodukte diese Reaktionen.

Positive Fluoreszenz und Aldehydreaktion wurde im Harn nach Verfütterung folgender Stoffe erhalten: 2,4-Dimethylpyrrol, Phonopyrrolkarbonsäure, Hämopyrrol, ferner das Hemibilirubin von Fischer (s. später) und die Substanz II. Aldehydreaktion allein wurde nach Verfütterung folgender Körper erhalten: 2,4-Dimethylpyrrol-3-Carbonsäureester, 2,5-Dimethylpyrrol-3-Carbonsäureester, 1 Phenyl-2,5-Dimethylpyrrol-3-Carbonsäureester.

Aus diesen Beobachtungen geht hervor, dass die bekannten Urobilinproben keine Gewähr dafür geben, dass ein dem Organismus einverleibtes Pyrrolderivat im Harn in Urobilin übergeht, denn sonst kämen viele Körper als Urobilinbildner in Betracht.

Diese Untersuchungen von Fischer und Meyer-Betz verdienen volle Beachtung, da durch dieselben ganz neue Gesichtspunkte in die Frage der klinischen Bedeutung der Urobilinurie kommen.

Über die Entstehungsweise des Harnurobilins ist viel gestritten worden, ohne dass diese Frage endgültig entschieden werden konnte. Es ist eine ganze Reihe von Theorien aufgestellt worden. Eine eingehende Erörterung des Für und Wider kann hier nicht gegeben werden. Es seien diese Theorien hier im wesentlichen skizziert. Es ist wohl wahrscheinlich, dass eine Urobilinurie durch mehrere Momente bedingt sein kann, dass mehrere dieser Theorien berechtigt sind[2]).

1. Die intestinale Theorie. Das Bilirubin der Galle wird im Darm durch die Bakterien (s. vorher) zu Urobilin verwandelt. Dementsprechend überwiegt in den oberen Darmabschnitten das Bilirubin,

---

[1]) Hans Fischer u. Friedr. Meyer-Betz, Zeitschr. f. phys. Chem. **75**. 232. 1911; sowie **76**. 330. 1912.

[2]) Eine Zusammenfassung der Theorien findet man in von Noordens Handbuch d. Pathol. d. Stoffwechsels, ferner in der Dissertation von Kurt Pein, Beiträge zur Kenntnis der Urobilinurie. Diss. Med. Halle 1910. Hierauf sei auch wegen der einschlägigen Literatur verwiesen.

Digitized by Google

in den tieferen Abschnitten das Urobilin. Das Urobilin wird zum Teil resorbiert und gelangt im wesentlichen durch die Pfortader in die Leber. Vielleicht kommt ein kleiner Teil des Urobilin aus den tieferen Darmabschnitten direkt in die Venae haemorrhoidales und unter Umgehung der Leber in den Kreislauf. Vielleicht gelangt gerade dieses letztere Urobilin dann direkt als Urobilinogen zur Ausscheidung und ist die Quelle des normalen Urobilinogens des Harns.

In der Leber wird normalerweise das Urobilin zurückgehalten und gelangt wenigstens zum Teil durch die Galle von neuem in den Darm. Die Galle enthält nur dann Urobilin, wenn Urobilin vom Darm aus resorbiert werden konnte, oder auch bei Entzündungsvorgängen der Gallengänge (s. später). Die Tatsache, dass bei Kaninchen Urobilin im Harn fehlt, scheint darauf zurückzuführen zu sein, dass hier die entsprechende Darmflora fehlt, welche das Bilirubin in Urobilin verwandelt.

Urobilinurie tritt nun auf, wenn die Leber das Urobilin nicht vollständig zu bewältigen vermag. Dies könnte der Fall sein, wenn das Urobilin schon in sehr hohen Darmabschnitten auftritt und dann in sehr grossen Mengen rasch resorbiert wird. Oder aber wenn Urobilin in absolut gesteigerten Mengen der Leber zur Verarbeitung geboten wird, also z. B. bei Blutungen etc. Ferner ist an die Möglichkeit zu denken, dass bei offenem Ductus Arantii oder bei entstehendem Kollateralkreislauf bei Stauung im Pfortadergebiet Darmurobilin unter Umgehung der Leber direkt in den grossen Kreislauf gelangen kann. Endlich können die verschiedensten Störungen des Leberparenchym die Fähigkeit der Leber, Urobilin zu eliminieren, herabsetzen oder aufheben.

Hierher gehört auch die cholangiogene Urobilinurie. Es können Bilirubin reduzierende Bakterien in die Gallengänge eindringen und schon hier ihre Tätigkeit entfalten, so dass überhaupt kein Bilirubin in die Galle gelangt, sondern nur Urobilin. Tritt unter solchen Umständen eine Behinderung des Gallenabflusses ein, so kann Urobilinurie hervorgerufen werden, anstatt oder neben einem Bilirubinikterus.

2. Die hepatogene Theorie. Nach dieser Theorie produziert die normale Leberzelle Bilirubin, die kranke Urobilin. Der Umfang, in dem Urobilin statt Bilirubin produziert wird, dient als Gradmesser der Leberinsufficienz. Diese Theorie herrscht auch heute noch in Frankreich. Ein Sauerstoffmangel in der Leber soll dann die Ursache der Urobilinurie sein. Für diese Theorie spricht ein Fall, indem bei totalem Verschluss des Ductus choledochus, wo kein Bilirubin in den Darm gelangte, Urobilinurie bestand. Jedoch ist dieser Fall nicht eindeutig, z. B. ist an die cholangiogene Urobilinurie zu denken. Auch

Digitized by Google

die Tierexperimente haben keine zwingenden Beweise für diese Theorie gebracht.

3. Die hämatogene Theorie. Nach ihr hat die Leberzelle mit der Urobilinbildung nichts zu tun. Dieselbe soll vielmehr abhängig sein von der Zerstörung der roten Blutkörperchen. Wie im Reagenzglas mit der Zeit ohne Fäulnisprozesse in hämoglobinhaltigem Serum Urobilin auftritt, so soll es auch bei Erythrocytolyse sich bilden. Solche Erythrocytolyse entsteht in blutigen Infarkten, in apoplektischen Herden und hämorrhagischen Ergüssen oder auch innerhalb der Blutbahn durch infektiöse Materien oder durch chemische Gifte. Tatsächlich fand Gerhardt Urobilin in einer hämorrhagischen Ascitesflüssigkeit bei einem Krebs der Gallenblase, wo durch Verschluss des Ductus der Darm frei von Bilirubin und Urobilin war. Auch findet man in hämorrhagischen Ergüssen tatsächlich häufig Bilirubin. Hier muss aber mit dem Fall gerechnet werden, dass das Bilirubin von aussen eingewandert ist.

4. Die nephrogene Theorie. Danach soll die Leberzelle stets nur Bilirubin produzieren, auch im kreisenden Blut sich nur Bilirubin befinden. Wird aber wie beim Stauungsikterus Galle resorbiert, so gelangt der Gallenfarbstoff durch die Blutbahn zu den Nieren und die Nierenepithelien reduzieren ihn zu Urobilin. v. Leube hat diese Theorie aufgestellt. Er begründete sie damit, dass in einem Falle von Urobilinurie in dem durch Pilocarpin hervorgerufenen Schweiss sich nicht etwa Urobilin, sondern Bilirubin fand. Auch findet sich tatsächlich in fast allen Fällen von Urobilinurie im Blut Bilirubin (v. Jaksch, Patella und Accorambini), während häufig bei starker Urobilinurie im Blut Urobilin fehlt (Herscher).

5. Die histogene (pigmentäre) Theorie. Danach soll das Bilirubin in den Geweben als Schutzmassregel gegen eine Giftwirkung in Urobilin übergeführt werden. Das Urobilin ist tatsächlich im Gegensatz zu dem Bilirubin, welches sehr fest in den Geweben haftet, eine sehr leicht diffusible Substanz. Das in den Geweben gebildete Urobilin soll demnach in den Harn gelangen.

B. Eigenschaften. 1. Urobilin ist amorph, nicht zerfliesslich; in der Wärme entwickelt es einen eigentümlichen Geruch. Seine Farbe ist je nach der Darstellung verschieden. Das mit Ammonsulfat gefällte ist braun, das durch Verdunsten der alkoholischen Lösung erhaltene rötlich braun, und das aus alkalischer Lösung durch Säure gefällte schön rot (Garrod und Hopkins[1]). Es löst sich leicht in Äthylalkohol, auch in säurehaltigem, und in Chloroform, ferner in Amylalkohol, wenig in Äthyläther und in Essigäther, sehr wenig in Wasser.

[1]) A. E. Garrod und F. G. Hopkins, Journ. of Physiol. 20. 125. 1896.

Digitized by Google

Neutralsalze erhöhen seine Löslichkeit in Wasser bedeutend, doch kann es durch Sättigen seiner Lösungen mit einigen Neutralsalzen mehr oder minder vollständig abgeschieden werden. Äther, Amylalkohol, Chloroform nehmen es aus den salzgesättigten Lösungen auf.

Saillets [1]) α-Urobilin bleibt beim Verdunsten seiner Lösung in Essigäther oder Chloroform als rosenroter Firnis zurück. Es ist unlöslich in Petroläther, fast unlöslich in Schwefeläther, etwas besser löslich in Essigäther, viel besser in Wasser und in Chloroform, sehr leicht löslich in Alkohol, in Säuren und in Alkalien. Wasser entzieht es vollständig dem Schwefeläther und dem Essigäther, nicht aber dem Chloroform; Chloroform entzieht es dagegen dem Wasser. In Gegenwart von Alkali löst sich das Urobilin besser in Wasser als in den anderen Lösungsmitteln, aber in Gegenwart einer Säure besser in den beiden Äthern und in Chloroform als in Wasser. In gesättigter Ammonsulfatlösung ist es ganz unlöslich; beim Sättigen seiner wässerigen Lösung mit Ammonsulfat fällt es in 1—2 Tagen in feinen amorphen, gelblichbraunen Körnchen aus.

Das β-Urobilin scheidet sich beim Verdunsten seiner Lösung in Essigäther gleichfalls als rosenroter Firnis ab. Aus seiner Lösung in Ammoniak wird es in Flöckchen abgeschieden, welche im durchfallenden Licht rosenrot, im auffallenden grün erscheinen. Es ist unlöslich in Petroläther und in Schwefeläther, sehr wenig löslich in Essigäther, leichter löslich in Chloroform, in Wasser und in Alhohol, besonders aber in den Alkalien. In Gegenwart irgend einer Säure löst es sich in Essigäther und in Schwefeläther leichter als in Wasser. An der Luft und in Berührung mit selbst sehr verdünnten Säuren geht es wieder in α-Urobilin über.

Von den Neutralsalzen fällt das Ammonsulfat das Urobilin beim Sättigen so vollständig, dass es (zuerst von Méhu) zur Darstellung des Farbstoffes aus Harn empfohlen wurde; die Fällung ist aber erst bei gänzlicher Sättigung vollständig. Der Niederschlag löst sich wieder in Wasser und durch Äthyl- und Amylalkohol, Ätheralkohol, Chloroform kann ihm Farbstoff entzogen werden. Gar nicht gefällt wird das Urobilin nach Garrod und Hopkins beim Sättigen der Lösung mit Salmiak, sowie nach Edmunds [2]) beim Sättigen der Lösung mit Magnesiumsulfat.

2. Mit den Alkalien (auch Ammoniak) bildet es in Wasser und in Alkohol leicht lösliche Salze. Die Ammonverbindung verliert beim Verdunsten das Ammoniak. Durch die Alkalihydrate kann es der Lösung in mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmitteln entzogen werden. Aus den wässerigen Lösungen der Alkaliverbindungen (und seiner Salze überhaupt) wird es durch Säuren in braunen Flocken gefällt.

Verbindungen mit den alkalischen Erden oder den Schwermetallen erhält man durch Zusatz der entsprechenden Salze zu einer Lösung des Urobilins in Alkalihydrat (Ammoniak). Diesen Salzen wird das Urobilin durch angesäuerten Alkohol wieder entzogen. Chlorbarium gibt nur mit konzentrierten Lösungen Niederschläge, mit verdünnten nicht; das Calciumsalz ist erheblich leichter löslich. In neutraler oder schwach alkalischer Lösung gibt das Urobilin mit einigen Metallsalzen (den Bleiacetaten, Zinksalzen) unlösliche oder schwer lösliche Nieder-

[1]) Saillet, a. a. O. 122 u. 119.

[2]) C. Méhu, Journ. de pharm. et de chimie [4] 28. 159. 1878; Bull. de l'Acad. de méd. [2] 7. 671. — A. E. Garrod und F. G. Hopkins, Journ. of Physiol. 20. 119. 1896. — A. Edmunds, Journ. of Physiol. 17. 451. 1895.

Digitized by Google

schläge. Andere Metallverbindungen des Urobilins fallen entweder gar nicht aus, wenigstens dann nicht, wenn sie aus verdünnten Lösungen dargestellt werden (Kupfer, Silber, Quecksilberoxyd), oder können von Lösungsmitteln in Lösung erhalten werden: das Zinksalz durch die Alkalihydrate, das Kupfersalz durch Ammoniak, andere, wie die Eisensalze und das Mangansalz nach Denigès durch Glycerin. Das Kupfersalz löst sich nach Bogomolow[1]) in Chloroform.

Mit Phosphorwolframsäure geht das Urobilin nach Salkowski[2]) keine in Mineralsäuren unlösliche Verbindung ein.

Alkalische Barytlösung scheint das Urobilin besser zu fällen, als neutrale; die Fällung ist aber immer eine sehr unvollständige. Durch die grössere Löslichkeit seines Barytsalzes in Wasser unterscheidet sich das Urobilin vom Hämatoporphyrin, dessen Barytsalz selbst in siedendem Wasser so schwer löslich ist, dass man dieses Verhalten zur Trennung beider Farbstoffe benützen kann (Huppert). Doch blieb einmal beim Auskochen von Urobilinbarium ein Teil ungelöst, und dieser bot nach dem Lösen in saurem Alkohol ein sehr dunkles Urobilinband mit kaum verwaschenen Rändern dar, während das bei dem in wässerige Lösung gegangenen Farbstoff nicht in dem Masse der Fall war.

3. Seine Lösungen in indifferenten Lösungsmitteln sind braungelb, verdünntere gelb, ganz schwache rosenrot. Die Lösungen reagieren vollkommen neutral und zeigen eine grüne Fluorescenz; auf Zusatz von Chlorzink zur alkoholischen Lösung erfährt die Fluorescenz eine mehr oder minder beträchtliche Zunahme und die Lösung wird im durchfallenden Licht schön rot.

In säurehaltigem Alkohol löst es sich mit brauner Farbe, welche beim Verdünnen der Lösung erst rotgelb (wie Harn), dann rosenrot, aber nicht gelb wird; die Lösung fluoresziert nicht.

Die alkalischen Lösungen sind je nach dem Grade der Verdünnung braungelb, gelb, rosa. Eine saure braunrote Lösung wird beim Übersättigen mit Ammoniak gelb mit einem Stich ins Grüne; auch fluoresziert sie öfter grün, jedoch nicht immer. Auf Zusatz eines löslichen Zinksalzes wird die Lösung zart rosenrot und zeigt nun eine starke grüne Fluorescenz, welche beim Ansäuern verschwindet und bei Wiederherstellung der alkalischen Reaktion zurückkehrt.

Bei gleichem Gehalt an Urobilin ist die saure Lösung dunkler als die neutrale, und diese dunkler als die alkalische; mit der Änderung der Reaktion tritt im Sinne der Färbungsintensität auch ein Wechsel des Farbentons ein.

---

[1]) Denigès, Journ. de pharm. et de chimie [6] 5. 395; Chem. Zentralbl. 1897. 1. 1128. — Th. Bogomolow, Petersb. med. Wochenschr. 16. 1892; Jahresber. f. Tierch. 1892. 536.

[2]) Salkowski, Berliner klin. Wochenschr. 34. 17. 1897. 353; Chem. Zentralblatt 1. 1133. 1897.

Digitized by Google

Die Lösung des von Saillet aus dem Chromogen dargestellten α-Urobilins in neutralem oder saurem Wasser ist rötlichgelb, in Chloroform dunkel rosenrot, in angesäuertem Essig- oder Schwefeläther fast rein gelb, in neutralem oder angesäuertem Zustand aber immer stärker rötlichgelb, als gelber normaler Harn. Die Lösung in Kaliumhydrat, in Natriumhydrat und in schwachem Ammoniak ist anfangs grünlichgelb, geht aber schnell in das Rotgelb der neutralen oder sauren Lösung über; die schwach ammoniakalische Lösung ist rötlich mit grüner Fluorescenz, die stark ammoniakalische lichtgelb und ohne Fluorescenz. Die Lösungen in neutralem oder saurem Wasser besitzen keine Fluorescenz; die Lösungen in Essigäther, in Schwefeläther und in Alkohol fluorescieren schön grün, auch noch in Gegenwart von sehr wenig Essigsäure, ferner in schwach ammoniakalischer wässeriger Lösung, namentlich auf Zusatz von Chlorzink. Die Fluorescenz erhält man am besten, wenn man zu einer Lösung des Farbstoffs in reinem Alkohol oder in sehr schwach ammoniakalischem oder sehr schwach essigsaurem Alkohol eine Spur Chlorzink zusetzt. Im durchfallenden Licht ist eine solche Lösung rötlich, erhitzt man sie bis zum Kochen, so bleibt die rote Färbung, die Fluorescenz jedoch verschwindet und kehrt beim Erkalten wieder.

Die Lösungen des β-Urobilins sind gelbrosa, stärker rosa in neutraler oder saurer Lösung, stärker gelb in alkalischer Lösung. Keine der Lösungen fluoresciert, auch nicht auf Zusatz von Chlorzink, die suspendierten Flocken des aus seiner Lösung abgeschiedenen Farbstoffes fluorescieren dagegen grün.

Die Fluorescenz kann auch durch Calciumsalze und durch Chlorbarium hervorgerufen werden, jedoch viel weniger gut, als durch Zinksalze; Salze der Magnesia, der Tonerde, des Cadmiums u. a. sind in dieser Hinsicht unwirksam (Jaffé).

Gegenwart fremder Farbstoffe kann nach Hammarsten[1]) das Auftreten der Fluorescenz verhindern.

Die Metallsalze besitzen häufig eine andere Farbe, als das Alkalisalz, aus dem sie entstanden sind.

Das Quecksilbersalz ist vor allem unterschieden durch die schön rosenrote Farbe seiner Lösungen, auch bei hoher Konzentration dieser (A. Schmidt). Kupferoxydsalze rufen auf Zusatz zur alkalischen Lösung nach Bogomolow, nach Denigès, sowie nach Salkowski[2]) eine der Biuretreaktion ähnliche rote oder violette Färbung hervor, und ebenso verhalten sich nach Denigès auch die Nickel- und Kobaltsalze. Die Lösung des Kupfersalzes in Chloroform ist nach Bogomolow carminrot. Magnesia- und Cadmiumsalze, Kupferchlorür, die Ferro-, Ferri- und Manganosalze sind nach Denigès ohne Einfluss auf die Farbe. Diese Eigenschaft kommt also nur solchen Metallen zu, welche mit Ammoniak leicht Doppelsalze oder beständige aminartige Verbindungen bilden.

Die schön rote Färbung, welche eine schwache alkalische Lösung von Urobilin in Natronlauge beim Schütteln mit Kalomel annimmt, rührt nicht, wie Zawadzki angibt, von Urorosein, sondern nach Garrod und Hopkins[3]) von der Quecksilberverbindung des Urobilins her.

Die rote Farbe hängt nach Garrod und Hopkins[4]) davon ab, ob im Spektrum Blau und Violett sichtbar sind und wieweit das Absorptionsband nach Rot zu gerückt ist (Grün verdeckt). Eine Lösung in (alkoholfreiem) Bromoform erscheint noch bei höherer Konzentration rot, als eine in (alkoholfreiem) Chloroform, eine Chloroformlösung bei stärkerer Konzentration noch rot als eine in saurem

[1]) Hammarsten, Skandinav. Archiv 3. 330. 1902.

[2]) A. Schmidt, Verhandl. des XIII. Kongresses f. inn. Med. 1895. 320. — Bogomolow a. a. O. — Denigès a. a. O. — Salkowski a. a. O.

[3]) J. Zawadzki, Archiv f. exper. Pathol. 28. 451. 1891. — Garrod und Hopkins, a. a. O. 128.

[4]) Garrod und Hopkins a. a. O. 124 u. 129.

Digitized by Google

Alkohol. Der linke Rand des Bandes liegt bei der Bromoformlösung aber weiter nach Rot zu als bei der Chloroformlösung und bei dieser weiter nach Rot zu als bei der alkoholischen. Bei der Quecksilberverbindung ist der Absorptionsstreifen weit nach Rot gerückt.

4. Die Spektren.

a) Das saure Spektrum (s. Tafel, Spektr. 4 a). Die saure alkoholische Lösung des Urobilins zeigt ebenso wie die Lösungen in neutralen Lösungsmitteln (Alkohol, Chloroform) einen breiten Absorptionsstreifen γ, welcher mit dem linken Rande fast bis b reicht, mit dem rechten Rand F überragt. Der Streifen erstreckt sich etwa von λ 508 bis 455. Bei starker Verdünnung ist nur ein schmales Band auf der F-linie sichtbar. An der dem Rot zugekehrten linken Seite ist der Streifen schärfer begrenzt als an der dem Violett zugewendeten rechten; bei stärkerer Konzentration geht der rechte Rand gleichmässig in die vom violetten Ende hereinragende Verdunkelung über, und nur im Sonnenlicht schimmert das Blau noch durch und der linke Rand überschreitet b. Mit zunehmender Verdünnung verkürzt sich das Band namentlich auf der rechten Seite, das Blau wird deutlicher. Der Streifen befindet sich fast an derselben Stelle wie der Streifen des Choletelins in saurer Lösung, ferner wie β des Uroerythrins und γ des Bilicyanins in saurer Lösung. In verdünnten Lösungen verschwindet der Streifen auf Zusatz von Ammoniak oder Lauge bis zur alkalischen Reaktion.

Hydrobilirubin hat dasselbe Spektrum.

Charnas[1]) machte die Beobachtung, dass die beiden Modifikationen des Urobilinspektrums unabhängig von der Reaktion auftreten können. Der frische Harn zeigte z. B. bei starker Verdünnung das Spektrum der sauren Urobilinmodifikation. Beim Aussalzen mit Ammoniumsulfat war nach der vierten Aussalzung, trotzdem das Ammoniumsulfat neutral war, das Spektrum des alkalischen Urobilins vorhanden. Beim fünften Aussalzen stellte sich das saure Spektrum wieder her, um beim ersten Aufnehmen mit Alkohol wieder in die alkalische Form überzugehen. Die alkalische Lösung erschien rosa und nach 20 facher Verdünnung mit Wasser gelb und zeigte nunmehr ein doppeltes Spektrum (zwei Streifen bei $\lambda = 486$—501 $\mu\mu$ und bei 510—518 $\mu\mu$). Wurde jetzt mit Essigsäure angesäuert, so wurde der saure Streifen stärker und der alkalische schwächer, um schliesslich ganz zu verschwinden.

b) Das metallische (alkalische) Spektrum. In konzentrierten alkalischen Lösungen ist der weiter nach Rot zu liegende, an b grenzende, an den Rändern verwaschene Streifen δ sichtbar. Die ammoniakalische Lösung zeigt ihn nur, wenn sie arm an Ammoniak oder reich an Farbstoff ist. Der Streifen gehört den Metallverbindungen des Urobilins an; er erscheint auch, zugleich mit der Fluorescenz, auf Zusatz einer alkalischen Chlorzinklösung zu einer (sauren oder neutralen) alkoholischen Urobilinlösung. Er besitzt dieselbe Lage wie der Streifen der Zinkverbindung des Choletelins und wie γ des

[1]) D. Charnas, Biochem. Zeitschr. 20. 401. 1909.

Digitized by Google

Bilicyanins in alkalischer Lösung. Beim Ansäuern tritt der Streifen γ an seine Stelle (s. Tafel I, Spektr. 4 b).

Hydrobilirubin hat dasselbe Spektrum.

Die Cadmiumverbindung zeigt das Band nicht (Jaffé), die Quecksilberverbindung nach Garrod und Hopkins [1]) ein mit dem linken Rande an E grenzendes Band, das Silbersalz nur einen breiten verwaschenen Schatten in der Gegend von δ. Der Streifen der Kupferverbindung in wässeriger Lösung ist schlecht begrenzt (Salkowski), ihre Lösung in Chloroform gibt aber ein scharfes Band auf E (Bogomolow). In schwach alkalischer, fast neutraler Lösung können beide Bänder zugleich auftreten (Garrod und Hopkins); da sie sich mit ihren Rändern decken, so scheint es, als ob γ bis über b reiche.

Bei dem α-Urobilin Saillets [2]) liegt δ als schmaler verwaschener, nicht so dunkler Streifen als γ zwischen b und F, näher an b als an F; seine Mitte entspricht λ 505. Das Band ist sichtbar in allen fluorescierenden Lösungen (in schwach ammoniakalischen Lösungen, in den Lösungen in reinem Essig- und Schwefeläther und in reinem Alkohol), aber auch in den nicht fluorescierenden mit Kalium- oder Natriumhydrat hergestellten Lösungen. Auf Zusatz von Zinksalz wird es sehr deutlich. In der mit Chlorzink versetzten alkoholischen Lösung verschwindet es nicht bei sehr geringem Zusatz von Essigsäure. Stark ammoniakalische Lösung zeigt das Band nicht. Um diesen Streifen und zugleich die Fluorescenz hervorzurufen, muss das Urobilin möglichst rein und darf nicht mit Reagentien behandelt sein. Beim Erwärmen verschwinden Band und Fluorescenz, beim Erkalten treten beide wieder auf.

Das β-Urobilin zeigt in der Lösung in Chloroform, in Wasser, Alkohol, angesäuertem Schwefel- oder Essigäther, Alkalien ein namentlich links gut begrenztes, mit dem linken Bande auf b aufliegendes Band, dessen Mitte λ 535 entspricht. Es hat die Lage wie δ im Spektrum 4 b.

c) Das Spektrum des freien Urobilins, das E-Band von Garrod und Hopkins [3]). Wenn man eine konzentrierte Lösung von Urobilin in sehr schwacher Natron- oder Kalilauge mit Schwefelsäure vorsichtig ansäuert, so trübt sich die Flüssigkeit schwach und zeigt dann neben γ ein gut begrenztes Band, gerade auf E zwischen λ 535 und 522. Es ist etwas schmäler als δ und durch einen Schatten mit γ verbunden. Gelingt es durch wiederholtes Filtrieren eine klare Lösung zu erhalten, so weist diese nur γ auf, der schön rote, amorphe Niederschlag auf dem Filter aber das E-Band. Die alkoholische Lösung des Niederschlags zeigt γ. Hydrobilirubin zeigt das E-Band nicht.

Ein Überschuss an Säure bringt das Band zum Verschwinden, ebenso Erwärmen, wobei Lösung eintritt; beim Erkalten erscheint das Band nicht wieder. In schwach alkalischer Lösung ist der Streifen nicht zu sehen. — Das Urobilin muss schon nahezu rein und darf noch nicht verändert sein, wenn der Streifen zu Gesicht kommen soll; enthält die Lösung farblose Substanzen, welche durch Säure abgeschieden werden, so schlagen diese das Urobilin mit nieder und das E-Band ist dann nicht sichtbar.

Das mit Säure aus seiner alkalischen Lösung gefällte β-Urobilin Saillets gibt, in Wasser suspendiert, einen dunklen verwaschenen Streifen, links von E an E grenzend, dessen Mitte bei λ 535 liegt.

[1]) Garrod und Hopkins, a. a. O. 128.
[2]) Saillet, a. a. O. 120.
[3]) Garrod und Hopkins, a. a. O. 125 u. 139.

Digitized by Google

Nach Salkowski gibt eine neutrale alkoholische Lösung von (nach C. IV. gewonnenem) Urobilin mit 7 mg Substanz in 100 ccm (im Reagenzglas von ungefähr 16 mm Durchmesser) einen ausserordentlich starken, schwarzen Absorptionsstreifen, eine Lösung mit 3 mg in 100 ccm noch einen ziemlich starken Streifen. Natronlauge bringt diesen zum Verschwinden. Auf Zusatz von Kupfersulfat wird die alkalische Lösung rosenrot und zeigt einen undeutlich begrenzten Streifen, auf Zusatz von Chlorzink den dafür charakteristischen Streifen. — Nach Saillet [1]) ist γ kaum noch sichtbar in einer 15 mm dicken Schicht einer Lösung, welche 1 mg α-Urobilin in 22 ccm enthält (d. i. bei 10 mm dicker Schicht 6,82 mg in 100 ccm).

Nicht selten nimmt man an neutralen Lösungen des aus Harn dargestellten Urobilins einen Schatten wahr, welcher sich an die dem Rot zugekehrte Seite des Bandes anschliesst und sich allmählich gegen das Gelb hin verliert. Er rührt von Indigrot her, wenn der den Schatten veranlassende Farbstoff beim Schütteln der Chloroformlösung mit Ammoniak nicht in dieses übergeht. Manchmal treten in diesem Schatten und im Rot die Streifen des alkalischen Hämatoporphyrins auf und zuweilen kann man solchen Lösungen in Chloroform durch Schütteln mit saurem Wasser Hämatoporphyrin entziehen.

Auch das Spektrum des Uroroseins und das des Uroerythrins kann nach Garrod und Hopkins neben dem Urobilinband sichtbar werden. Ammonsulfat fällt Uroerythrin mit der Harnsäure, sowie das Chromogen des Uroroseins.

5. Aus Urobilinogen durch Einwirkung des Lichtes hergestelltes reinstes Urobilin zeigte ein Absorptionsverhältnis $A = 0{,}000017$ (siehe S. 1404). Es übertrifft also das Hydrobilirubin von Maly an Färbekraft um etwa das Dreifache (Charnass).

Von zwei zu vergleichenden Urobilinpräparaten wird dasjenige als das reinere anzusehen sein, welches ein grösseres Extinktionsvermögen und somit das kleinere Absorptionsverhältnis besitzt.

6. Das Urobilin erleidet leicht Veränderungen. Es kann zwar nach Jaffé mit verdünnten Alkalien oder verdünnten, nicht oxydierenden Säuren gekocht werden, ohne die beschriebenen optischen Eigenschaften zu verlieren. Oxydationsmittel und reduzierende Substanzen verändern es aber leicht.

Nach Saillet dagegen wird das aus dem Chromogen dargestellte α-Urobilin sehr leicht durch Alkalien in der Wärme, selbst in der Kälte in das β-Urobilin übergeführt. Am besten geschieht diese Umwandlung, wenn man eine Lösung von α-Urobilin in Ammoniakwasser um $\frac{1}{3}$ einkocht; Essigäther entzieht der schwach angesäuerten Flüssigkeit das β-Urobilin, die mit in Lösung gegangenen Spuren α-Urobilin können durch Waschen mit Wasser entfernt werden. Es wird durch selbst verdünnte Säuren wieder in α-Urobilin zurückverwandelt, weicht aber in seinen Eigenschaften von dem gewöhnlich als Verbindung des Urobilins mit den Alkalien beschriebenen Produkt ab.

Beim Verdunsten einer wässerigen ätherhaltigen Lösung in der Wärme erfährt das Urobilin nach Garrod und Hopkins eine merkliche Oxydation. Beim Eindampfen seiner Lösungen in Chloroform färbt es sich dunkler und löst sich danach nicht mehr vollständig in Alkohol. Durch Salpetersäure färbt es sich nicht, wie das Bilirubin, grün, sondern wird gebleicht, namentlich wenn man es nach Zoja in Gegenwart von viel Mineralsäure mit wenig rauchender Salpetersäure erwärmt. Wasserstoffsuperoxyd bringt nach Garrod und Hopkins den

[1]) Salkowski, Berliner klin. Wochenschr. 34. 17. 1897. 355 und briefliche Mitteilung. — Saillet, a. a. O. 125.

Digitized by Google

Farbstoff gleichfalls zum Verschwinden, wenn auch langsamer, als die Salpetersäure. Bromwasser entfärbt seine wässerig-alkoholische Lösung unter Abscheidung gelbweisser Flocken; verdünnte Salzsäure und Kaliumchlorat bleicht die Lösung des α-Urobilins nach Saillet[1]) schnell. Nach Méhu, sowie nach Rabuteau wird Kupferoxyd in alkalischer Lösung durch Urobilin zu Kupferoxydul reduziert.

Bei vorsichtiger Oxydation mit Permanganat liefert das Urobilin nach Riva[2]) einen dem Urochrom sehr ähnlichen, gelben Farbstoff, welcher sich in Wasser, Alkohol, Chloroform und in Phenol löst, aber nicht in Äther, und dessen Lösungen keinen Absorptionsstreifen aufweisen.

Nach Salkowski[3]) enthält urobilinhaltiger Harn nach 2stündigem Erhitzen in strömendem Wasserdampf kein Urobilin mehr, sondern ein gefärbtes Umwandlungsprodukt. Diese Angabe bestätigt Fromholdt. Es liess sich weder direkt noch nach dem Ausschütteln mit Amylalkohol Urobilin nachweisen. Dagegen änderten reine Lösungen von Urobilin bei einer solchen Beschaffenheit ihr Verhalten nicht. — Mitunter (namentlich bei Inanition) kommen dunkle Harne vor, die kein Urobilin enthalten; vielleicht handelt es sich hier auch um das erwähnte Umwandlungsprodukt. (Salkowski.)

7. Es gelingt nach Charnas[4]) in einfacher Weise, das Urobilin des Harns quantitativ in Urobilinogen umzuwandeln, indem man den Harn 24 Stunden im Brütofen der alkalischen Gärung überlässt. Es genügt, die native sauere Reaktion des Harns durch Ammoniumcarbonat abzustumpfen. In urobilinfreien Harnen kommt es bei der Gärung niemals zur Bildung von Urobilinogen, auch nicht bei Gegenwart von Gallenfarbstoffen. Das Urobilinogen verschwindet auch bei monatelanger Gärung nicht aus dem Harn. — Selbst in urobilinreichen bewirkt die Umwandlung dieses Farbstoffes keine Aufhellung. Es scheint durch die Neubildung anderer dunkelgefärbter Stoffe dieselbe verdeckt zu werden.

Versuche, auf chemischem Wege das Urobilin zu reduzieren, führten nicht zu befriedigenden Ergebnissen, vor allem weil sich eine Überreduktion, d. h. eine Zerstörung des gebildeten Urobilinogen, nicht vermeiden liess (Charnas). Dies tritt ein bei direkter Reduktion des urobilinhaltigen Harnes mit Zink und Salzsäure. — Besser verlief die Reduktion des mit Ammonsulfat isolierten Urobilin mit Zinkstaub und Essigsäure, aber auch nicht quantitativ. — Hydrazinsulfat, sowie schwefelige Säure waren unbrauchbar. — Mit Jodwasserstoffsäure, mit Jodphosphonium, beim Eintragen von Natrium in die alkoholische Lösung von Bilirubin waren ebenfalls die Resultate unbefriedigend. Am besten wirkte noch eine Reduktion einer mit Bicarbonat hergestellten Urobilinlösung mit Natriumamalgam unter Durchleitung eines Kohlensäurestromes (Charnas).

---

[1]) Garrod und Hopkins, a. a. O. 121. — Saillet, a. a. O. 122.
[2]) A. Riva, Gaz. med. di Torino 47. Nr. 12. 1896.
[3]) E. Salkowski, Virchows Archiv 109. 358. 1887. — G. Fromholdt, Zeitschr. f. physiol. Ch. 53. 347. 1907.
[4]) D. Charnas, Biochem. Zeitschr. 20. 401. 1909.

Digitized by Google

Durch Natriumamalgam, noch schneller aber durch Zinn und Salzsäure, werden Urobilinlösungen entfärbt (Disqué), an der Luft kehren aber die Farben und das Absorptionsband zurück. Bei der Fäulnis oder der Verschimmelung seiner Lösungen wird das Urobilin nur langsam zerstört. Aus Harn verschwindet es nach Salkowski beim Aufbewahren desselben, ohne dass dieser seine Farbe verliert. Hoppe-Seyler[1]) machte die Beobachtung, dass Urobilin im Harn bei der Reduktion durch Fäulnis und nachherige Oxydation an der Luft einen (anderen) braunen Farbstoff bildet.

8. Eine neutrale oder alkalische Urobilinlösung nimmt auf Zusatz von (wenig) Kupfersulfat nach Salkowski eine der Biuretreaktion ähnliche rosenrote oder violette Färbung an (B. 3).

Auch Bogomolow beschreibt diese Reaktion. Nach Stokvis[2]) ist positive Reaktion im Menschenharn im allgemeinen auf das Bilirubin zurückzuführen.

C. Darstellung. Für die Reinheit des Präparates ist massgebend, dass es keine andere spektrale Absorption darbietet als das typische Band. Für die Darstellung sind folgende Verfahrungsweisen befolgt worden.

I. Durch Sättigen mit Ammonsulfat.

1. Sättigt man Harn mit Ammonsulfat, so fällt neben dem Urobilin das in jedem Harn enthaltene Hämatoporphyrin gleichfalls aus und geht bei der späteren Behandlung des Niederschlages mit in Lösung. Garrod fällt bei seinem Verfahren zum Nachweis des Hämatoporphyrins diesen Farbstoff vor dem Urobilin durch einen reichlichen Zusatz von Natron- oder Kalilauge; allein dieses Verfahren gestattet, wie Huppert sich oft überzeugte, keine scharfe Trennung beider Farbstoffe; es bleibt in der Regel etwas Hämatoporphyrin in Lösung. Vollständiger erfolgt die Abscheidung des Hämatoporphyrins, wenn man, wie Fr. Müller[3]) zur Entfernung von Gallenfarbstoff aus dem Harn vorschlug, den Harn mit einer alkalischen Chlorbariumlösung ausfällt. Dabei wird zugleich die Harnsäure entfernt, welche bei der nachträglichen Sättigung mit Ammonsulfat in den Niederschlag übergehen würde. Aus dem Filtrat wird der überschüssige Baryt am besten durch konzentrierte Natriumsulfatlösung entfernt, die Flüssigkeit mit Schwefelsäure nahezu neutralisiert und, nach abermaligem Filtrieren, mit Ammonsulfat gesättigt.

---

[1]) L. Disqué, Zeitschr. f. physiol. Ch. **2**. 259. 1878. — Salkowski, Virchows Archiv **109**. 361. 1887. — F. Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Ch. **15**. 186. 1891.

[2]) Bogomolow, Petersb. med. Wochenschr. 1892. Nr. 16. — H. B. J. Stokvis, Zeitschr. f. Biol. **34**. 466. 1897.

[3]) Fr. Müller, bei D. Gerhardt, a. a. O. und briefliche Mitteilung an Huppert.

Digitized by Google

Der flockige, bei saurer Reaktion der Flüssigkeit dunkelbraune, bei alkalischer Reaktion ledergelbe Niederschlag wird auf einem Faltenfilter gesammelt, mit gesättigter Ammonsulfatlösung einmal übergossen und nachdem er lufttrocken geworden ist, nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure mit Alkohol oder, nach Müller, besser mit einer Mischung von 1 Vol. Äther und 2 Vol. Alkohol (in der Wärme) ausgezogen. Ohne Zusatz von Säure löst sich noch wenig Farbstoff. Die Extraktion erfolgt ebensogut in der Kälte, aber langsam. Aus dieser Lösung kann man das Urobilin in Chloroform überführen, wenn man in ihr Chloroform auflöst und die Mischung in einem Scheidetrichter mit ungefähr dem doppelten Volumen Wasser schüttelt. Das Chloroform setzt sich nach einiger Zeit ab und kann abgelassen werden. Dem Chloroform lässt sich das Urobilin durch Schütteln mit ammoniakalischem Wasser entziehen, wobei zu beachten ist, dass bei Gegenwart von viel Ammoniak leicht eine sich nur sehr langsam in ihre Bestandteile scheidende Emulsion entsteht. Die Behandlung der Chloroformlösung mit Ammoniak darf auch darum nicht unterbleiben, weil sie eine Trennung des Urobilins vom Indigrot bewirkt, welches nach Hupperts Erfahrung das Urobilin öfter begleitet; das Indigrot bleibt in der Lösung. Aus der ammoniakalischen Lösung lässt sich das Ammoniak in der Wärme vertreiben. Das Verfahren ist mit einigem Verlust verbunden, weil es nicht gelingt, den Farbstoff vollständig aus einer Lösung in die andere überzuführen. Ein Vorwurf, welchen man dem Verfahren machen kann, ist, dass durch das Ammonsulfat auch das Urobilinogen gefällt wird; wie weit dieser Umstand von Bedeutung ist, bleibt noch zu ermitteln.

Zum Ausfällen des Harnes verwendet man nach Fr. Müller auf 100 ccm Harn 30 ccm einer Mischung von 1 Volumen gesättigter Chlorbariumlösung und 2 Volumen gesättigtem Barytwasser. Gleichfalls nach Müller ist Baryt das geeignetste Mittel für die Trennung des Urobilins von den Gallenfarbstoffen. Kalk ist weniger zuverlässig, Bariumhydrat zuverlässiger als die Barytmischung. Nur bei grösseren Mengen von Gallenfarbstoff ist die einmalige Fällung ungenügend; man kann sie dann nach Zusatz von etwas phosphorsaurem oder schwefelsaurem Salz wiederholen.

Die Menge Urobilin, welche im Barytsalze zurückbleibt, ist für die einfache Darstellung des Farbstoffes belanglos. Auch bei häufigem Auskochen desselben mit Wasser gehen noch kleine Mengen von Farbstoff in Lösung und wird der Niederschlag nicht entfärbt. Durch Behandeln eines so gereinigten Niederschlages (aus gallenfarbstofffreiem Harn) mit Natriumcarbonatlösung lässt sich ihm manchmal Hämatoporphyrin entziehen (Huppert).

In 100 ccm Harn lösen sich 75 g Ammonsulfat nicht ganz. Die Sättigung wird schneller erreicht, wenn man das Salz feingepulvert anwendet. Um die Lösung zu beschleunigen, muss man fleissig rühren oder das Salz mit dem Filtrat in einer Flasche schütteln. Erwärmen der Flüssigkeit auf 30—40° scheint für das Produkt nicht nachteilig zu sein; man darf dann aber erst nach dem Erkalten filtrieren, weil sich sonst das Filter durch auskrystallisierendes Ammonsulfat verstopft. — Ammonsulfat reagiert infolge der Gegenwart von freier Säure sauer, und beim Auflösen des Salzes in dem Harnfiltrat nimmt dieses saure Reaktion an; will man das vermeiden, so fügt man noch etwas Ammoniak zu.

Digitized by Google

Schon von Méhu ist empfohlen worden, dem Harn vor dem Salzzusatz 1—2 g Schwefelsäure auf das Liter hinzuzufügen. Wiewohl nach Fr. Müllers vergleichenden Versuchen ein grösserer oder geringerer Zusatz von Schwefelsäure zu dem Harnfiltrat nichts schadet, so unterlässt man doch besser das Ansäuern deshalb, weil es für die Darstellung des Urobilins überflüssig ist und weil der gewöhnliche Farbstoff des Harns, das Urochrom, durch Säuren zu braunem Farbstoff zersetzt wird.

Aus dem völlig trockenen Niederschlag gewinnt man nach Müller beim Auskochen mit Ätheralkohol nicht so viel Urobilin, als wenn er noch feucht ist. Ein dreimaliges Auskochen genügt, doch wird das rückständige Salz auch bei oft wiederholter Extraktion nicht farblos erhalten. Die Lösung zeigt auch in dicker Schicht nur den Urobilinstreifen. Die Menge der Säure im Ätheralkohol ist ohne Einfluss.

Die Lösung des Urobilins in Chloroform durch Erwärmen zu verdunsten, ist nicht rätlich, weil das Urobilin dabei seine Eigenschaften verändert.

Eine neutrale Urobilinlösung erhält man, statt (wie nach der oben gegebenen Vorschrift) einer sauren, wenn man nach Eichholz[1]) den Harn direkt, unter Zusatz von Ammoniak, mit Ammonsulfat sättigt, den abfiltrierten Niederschlag so lang an der Luft liegen lässt, bis das Ammoniak entwichen ist, und ihn dann, ohne Zusatz von Säure, mit absolutem Alkohol auszieht. Es löst sich dann aber viel weniger Farbstoff, als bei der Extraktion mit saurem Alkohol, und es geht dann auch Hämatoporphyrin in Lösung, was sich namentlich dann störend bemerklich macht, wenn der Harn reich an diesem Farbstoff ist.

2. Garrod und Hopkins[2]) verfahren zur Darstellung des Urobilins in folgender Weise.

Es wird zuerst die Harnsäure aus dem Harn durch Sättigen desselben mit Salmiak entfernt, wobei höchstens aus urobilinreichem Harn etwas Urobilin mechanisch mit niedergerissen, aber keines wirklich gefällt wird. Löst man dann im Filtrat Ammonsulfat, so entsteht beim Stehen ein Niederschlag von Urobilin in reinerem Zustande, als bei direkter Sättigung des Harns mit dem Sulfat. Wasser nimmt aus dem Niederschlag Urobilin zwar nicht besonders leicht auf, aber doch besser als andere Farbstoffe. Der Niederschlag wird demgemäss abfiltriert und, nachdem er trocken geworden ist, mit grossen Mengen Wasser ausgezogen, die Lösung mit Ammonsulfat gesättigt und das Verfahren so oft wiederholt, als man glaubt, dass es nötig ist. Diese Niederschläge werden getrocknet und mit absolutem Alkohol ausgezogen.

Steht das Urobilin in genügenden Mengen zur Verfügung, so ist es zweckmässiger, den zweiten und dritten Niederschlag in der gerade genügenden Menge verdünnten Ammoniaks zu lösen und die so erhaltene konzentrierte Lösung mit Schwefelsäure ganz wenig anzusäuern, wodurch der grösste Teil des Urobilins als ein amorphes, braunrotes Pulver gefällt wird.

Der Niederschlag wird besser durch die Zentrifuge als durch Filtrieren von der Flüssigkeit getrennt, mit einer kleinen Menge gesättigter

[1]) Eichholz, a. a. O. 329.
[2]) A. E. Garrod und F. G. Hopkins, Journ. of Physiol. 20. 118. 1896.

Digitized by Google

Ammonsulfatlösung gewaschen, wieder abzentrifugiert und vom Ammonsulfat durch wiederholtes Auflösen in absolutem Alkohol befreit.

Das Verfahren ist nur dann vorteilhaft, wenn urobilinreicher Harn verwendet wird (Harn, welcher für sich das Urobilinband zeigt).

II. Durch Fällen mit Metallsalzen.

1. Mac Munn u. a. fällen den Harn mit den Bleiacetaten und ziehen den Niederschlag mit angesäuertem Alkohol aus. Die Bleisalze schlagen aber, wie schon aus der fast vollständigen Entfärbung des Harns zu ersehen ist, auch andere Farbstoffe nieder und die alkoholische Lösung enthält keineswegs bloss Urobilin.

2. Das erste von Jaffé angegebene Verfahren zur Darstellung von Urobilin beruht auf der Anwendung von Zinksalz als Fällungsmittel. Es ist schwer ausführbar und die Ausbeute sehr gering, liefert aber nach Garrod und Hopkins[1]) ein reines Präparat.

Urobilinreicher Harn (Fieberharn) wird mit Ammoniak in nicht zu geringem Überschuss versetzt und das Filtrat mit konzentrierter wässeriger oder alkoholischer Chlorzinklösung ausgefällt. Ist das Filtrat von diesem Niederschlag noch sehr gefärbt, so vervollständigt man die Fällung durch Zusatz von noch etwas Ammoniak. Bei gelungener Fällung reagiert die Flüssigkeit schwach alkalisch. Die voluminösen, meist roten oder rotbraunen Niederschläge werden erst mit kaltem, dann mit heissem Wasser chlorfrei gewaschen, dann mit Alkohol ausgekocht, in gelinder Wärme völlig getrocknet, gepulvert, in Ammoniak gelöst, wobei ein geringer Rückstand bleibt, die Lösung mit Bleizucker gefällt und der meist intensiv rote Niederschlag mit Wasser gewaschen, bis Farbstoff in Lösung zu gehen beginnt. Man digeriert alsdann den Niederschlag mit schwefelsäurehaltigem Alkohol, setzt dem Auszug das halbe Volumen Chloroform und viel Wasser zu und schüttelt wiederholt kräftig. Das von der Flüssigkeit getrennte Chloroform wird ein- bis zweimal mit nur wenig Wasser gewaschen, wobei etwas Farbstoff in Lösung geht, und das Chloroform endlich abdestilliert.

Gegen die Reinheit des Präparates ist von Esoff eingewendet worden, dass ihm Äther eine bedeutende Menge rötlicher Substanz entziehe; nach Garrod und Hopkins[2]) ist aber der in ätherische Lösung gehende Farbstoff nichts anderes als Urobilin selbst.

III. Durch Extraktion.

1. Nach Garrod und Hopkins.

Garrod und Hopkins[3]) haben ein Verfahren angegeben, welches darauf beruht, dass dem Harn durch gewisse Lösungsmittel, besonders durch Chloroform, das Urobilin entzogen werden kann. Die Extraktion wird aber vollkommener, wenn man den Harn vorher bis zur deutlich

[1]) Garrod und Hopkins, a. a. O. 115.
[2]) J. Esoff, Pflügers Archiv 12. 50. 1873. — Garrod und Hopkins, a. a. O. 116.
[3]) Garrod und Hopkins, a. a. O. 120.

Digitized by Google

sauren Reaktion mit Schwefelsäure versetzt und ihn mit Ammonsulfat sättigt.

Sättigte man den Harn direkt mit Ammonsulfat, so fiele mit dem Ammonurat ein Teil des Urobilins aus, welches nicht in das Lösungsmittel überginge; der Harn wird demgemäss vorher durch Sättigen mit Salmiak von der Harnsäure befreit. Dabei hat man noch den Vorteil, dass mit dem Ammonuratniederschlag Farbstoffe und Chromogene mit ausfallen, welche sonst in das Lösungsmittel übergehen würden.

Der Harn wird also erst mit Chlorammon gesättigt, das Filtrat mit Schwefelsäure angesäuert, mit Ammonsulfat gesättigt und dann in einem geräumigen Scheidetrichter mit dem gleichen Volumen einer Mischung von 1 Volumen Chloroform und 2 Volumen Äther geschüttelt. Diese Mischung nimmt zwar das Urobilin nicht so leicht auf, als reines Chloroform, aber sie ist diesem vorzuziehen, weil weniger fremde Substanz in Lösung geht. Die obenauf schwimmende Mischung von Äther und Chloroform wird mit Wasser geschüttelt und gibt dabei den Farbstoff sofort an das Wasser ab, leichter noch, wenn dem Wasser eine Spur Alkali zugesetzt war, um etwa vorhandene Säure zu sättigen; denn die in das Wasser übergehende Säure erschwert die Aufnahme des Urobilins durch das Wasser. Die Mischung von Äther und Chloroform kann noch etwas Farbstoff enthalten, zeigt aber das Urobilinband nicht mehr.

Zu weiterer Reinigung wird die wässerige Lösung wieder mit Ammonsulfat gesättigt, schwach angesäuert und mit der Mischung von Chloroform und Äther geschüttelt. Vor der Sättigung der Flüssigkeit mit dem Salz muss jedoch der in dieselbe übergegangene Äther aus ihr entfernt werden, weil sich sonst der Äther stark gefärbt abscheidet und sich Farbstoff auf der Oberfläche der Flüssigkeit und an der Wand des Gefässes absetzt. Die Entfernung des Äthers hat in der Kälte mittels eines Luftstromes zu geschehen; beim Abdampfen auf dem Wasserbad würde der Äther eine Oxydation des Urobilins veranlassen. Dieser zweiten Lösung in Chloroform-Äther wird das Urobilin durch Schütteln mit einer kleinen Menge verdünnten Ammoniaks entzogen, aus der alkalischen Lösung durch Ansäuern gefällt, durch Schütteln mit reinem Chloroform in dieses übergeführt und das Chloroform verdunstet. Zur Entfernung noch vorhandener Spuren Ammonsulfat wird das Urobilin noch in absolutem Alkohol gelöst.

Auch dieses Verfahren ist mit Verlusten verbunden und lohnt sich nur bei der Verarbeitung von urobilinreichem Harn, solchem, welcher direkt den Urobilinstreifen zeigt.

2. Nach Saillet.

Saillet[1]) benutzt Essigäther als Extraktionsmittel und nimmt, um die Bildung von Urobilin aus Urobilinogen zu vermeiden, die Extraktion bei Petroleumlicht vor. Um den Verbrauch an Essigäther einzuschränken, werden einzelne Anteile Harn nacheinander mit demselben Essigäther behandelt.

Der Harn wird auf 100 ccm mit ungefähr 10 Tropfen Eisessig versetzt und dann mit einem ihm gleichen Volumen Essigäther geschüttelt. Das grosse Volumen Essigäther ist erforderlich, um die Bildung einer Emulsion zu vermeiden. Der Äther wird vom Harn getrennt und zur Behandlung einer anderen Harnportion verwendet, wobei man nur noch soviel frischen Essigäther zusetzt, als die erste Harnportion gelöst hat. Eine nochmalige Extraktion des Harns mit frischem Essigäther genügt, um ihm alles Urobilinogen zu entziehen. Der ätherische Auszug

[1]) Saillet, a. a. O. 118.

Digitized by Google

wird mit wenig Wasser gewaschen, das sich nicht färbt, wenn in den Essigäther nur Urobilinogen und kein Urobilin übergegangen ist. Dann setzt man den Essigäther der Einwirkung des Sonnenlichtes aus und schüttelt ihn, um ihm das gebildete Urobilin zu entziehen, mit wenig Wasser, unter Erneuerung des Wassers, so oft, als sich dieses noch färbt.

Ist eine häufige Behandlung mit Wasser nötig, so setzt man noch etwas Essigsäure zu. Das Hämatoporphyrin und andere, unbekannte Farbstoffe, welche der Essigäther gleichfalls aufgenommen hat, bleiben dabei in ihm zurück. Die so gewonnene wässerige Urobilinlösung wird noch mit Äthyläther geschüttelt und ihr dann das Urobilin mit Chloroform entzogen oder in Gegenwart von wenig Essigäther zur Aufnahme des Urobilins mit Ammonsulfat gesättigt. Beim Verdunsten der Lösungsmittel bei Zimmertemperatur bleibt das Urobilin als rosenroter Überzug in dem Gefässe zurück. Zur Erlangung einer einigermassen lohnenden Ausbeute muss man mehrere Liter Harn in Arbeit nehmen.

Das Verfahren ist nur auf Harn anwendbar, welcher so wenig Eiweiss enthält, wie normaler; bei stärkerem Eiweissgehalte bildet sich eine sehr beständige Emulsion.

IV. Durch Fällen mit Phosphorwolframsäure.

Reines Urobilin gibt mit Phosphorwolframsäure (und Salzsäure) keinen Niederschlag. In Gegenwart von Substanzen, welche durch Phosphorwolframsäure gefällt werden, wird es jedoch mit abgeschieden. Auf diese Eigenschaft gründet Salkowski[1]) folgendes Verfahren.

Urobilinreicher Harn wird mit basischem oder neutralem Bleiacetat ausgefällt, der Niederschlag gut ausgewaschen und noch feucht mit Salzsäure von 1,12 Dichte (100 ccm auf 1 Liter Harn) verrieben. Am nächsten Tage wird filtriert, das Filtrat mit Phosphorwolframsäure gefällt; der Niederschlag wird mit verdünnter Schwefelsäure fast ganz chlorfrei gewaschen, in Natronlauge gelöst und aus der verdünnten Lösung auf dem Wasserbade Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure (unter Erhaltung der alkalischen Reaktion) durch Chlorbarium ausgefällt. Das Filtrat lässt man nach Zusatz von Salzsäure bis zum nächsten Tage stehen, wobei sich ein Niederschlag bildet, welcher neben anderen braunen Farbstoffen oft Urobilin in nicht unerheblicher Menge enthält. Das Filtrat wird mit dem halben Volumen Alkohol und dem gleichen Volumen Chloroform geschüttelt und das von der übrigen Flüssigkeit getrennte Chloroform mit alkoholhaltigem Wasser gewaschen. Beim Waschen mit reinem Wasser geht viel Farbstoff in dieses über. Beim Verdunsten hinterlässt das Chloroform einen glänzenden rotbraunen, lackartigen, spröden Rückstand, der einen grünen Reflex besitzt. Salkowski hält dieses Urobilin für reiner, als das nach Jaffé dargestellte. Das Verfahren ist nicht einwurfsfrei. Phosphorwolframsäure schlägt das Urochrom nieder und liefert bei der Einwirkung von Säuren braune Zersetzungsprodukte.

Über die Trennung des Urobilins vom Hämatoporphyrin vgl. S. 1343.

D. Nachweis.

I. Im Harn direkt.

1. An Urobilin reicher Harn gibt bei der Gmelinschen Gallenfarbstoffreaktion (s. S. 1355) nur einen braunen Ring. Dieser Ausfall der Reaktion beweist zwar die Abwesenheit von Gallenfarbstoff, aber

[1]) Salkowski, Berliner klin. Wochenschr. 34. 17. 1897. 353; Chem. Zentralbl. 1897. I. 1133.

Digitized by Google

nichts über die Gegenwart oder das Fehlen des Urobilins. Man muss vielmehr versuchen, die Absorptionsstreifen und die Fluorescenz zu Gesicht zu bekommen.

Die Fluorescenz allein lässt sich in urobilinhaltigem Harn dadurch hervorrufen, dass man ihn mit Ammoniak stark alkalisch macht und das Filtrat mit wenig Chlorzink versetzt. Dasselbe erreicht man nach Gerhardt[1]) ebensogut, wenn man dem Harn Jodjodkaliumlösung oder Chlorwasser hinzufügt und ihn darauf mit Kalilösung alkalisch macht.

Bei dem Aufsuchen der Urobilinstreifen im Harn selbst ist zu berücksichtigen, dass Harne, welche in frischem Zustande keine bemerkbare Absorption darbieten, die Streifen oft nach längerem Stehen oder auf Zusatz von Säure erkennen lassen. Zur direkten spektroskopischen Beobachtung sind aber nur solche Harne geeignet, welche neben dem Urobilin nicht zu viel anderen Farbstoff enthalten.

Der natürliche saure Harn zeigt von den beiden Streifen, wenn überhaupt einen, den sehr schwer wahrnehmbaren Streifen γ bei F; die Dicke der Harnschicht, bei welcher γ erst sichtbar wird, kann bei normalem Harn 3—6 cm betragen, während umgekehrt Fieberharne und andere urobilinreiche Harne selbst in 1 cm dicker Schicht noch zu dunkel sind und deshalb verdünnt werden müssen. Alkalisch gewordene Harne müssen angesäuert werden, um den Streifen zur Erscheinung zu bringen. Aber auch bei normal sauren Harnen ruft Zusatz einer Mineralsäure in sehr vielen Fällen den Streifen hervor. Zu dem gleichen Zweck kann man sich nach Stokvis auch des Zusatzes einiger Tropfen Jodtinktur zum Harn mit Vorteil bedienen.

Gelingt es auf diese Weise nicht, den Streifen γ sichtbar zu machen, so kann man versuchen, den viel deutlicheren Streifen δ zwischen b und F zu entwickeln; man macht zu diesem Zweck den Harn mit Ammoniak stark alkalisch, fügt dem Filtrat nur so viel einer Zinksalzlösung zu, dass kein bleibender Niederschlag entsteht, und untersucht die Flüssigkeit in verschieden dicker Schicht vor dem Spektralapparat.

2. Die Schlesingersche Probe. Modifikation von Hildebrandt[2]).

Man fülle ein weites Reagenzglas zu $^2/_3$ bis $^3/_4$ mit gleichen Teilen Harn und gut durchgeschütteltem Zinkreagens und lasse 12 bis 24 Stunden stehen. Hat sich nach der angegebenen Zeit der Niederschlag gut abgesetzt — bei mangelhafter Sedimentierung muss filtriert werden — so prüfe man die überstehende Flüssigkeit ohne weiteres auf Fluoreszenz. Bei sehr geringem Gehalt an Urobilin kann man die scheinbar fehlende Fluoreszenz noch erkennen, wenn man die Flüssigkeit klar in ein anderes Reagenzglas abgiesst und von oben her in dieses hineinblickt. Hatte man vorher filtriert, so kann man, natürlich ohne abzugiessen, direkt von oben in das betreffende Reagenzglas hineinsehen. Zeigt sich keine Fluoreszenz, so besteht, wenn die Flüssigkeit wasserklar ist, sicher keine Urobilinurie. Ist die Flüssigkeit dagegen gelbrot oder

[1]) C. Gerhardt, Sitzungsber. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg 1881. 26.

[2]) W. Schlesinger, Deutsche med. Wochenschr. 1903. 313. — W. Hildebrandt, Zeitschr. f. klin. Med. 59. 351. 1906.

rosa, so ist fast immer pathologisch vermehrte Urobilinausscheidung vorhanden, die dann spektroskopisch erkannt werden kann.

Durch Zusatz von Salzsäure kann die Fluoreszenz sofort zum Verschwinden gebracht werden. Auch bei sehr konzentrierten, stark sauren Harnen kann die Fluoreszenz ausbleiben. Durch Zusatz von Ammoniak kann die Fluoreszenz dann aber wieder hervorgerufen werden. Das Urobilin wird also nicht etwa durch die Säure zerstört, was auch daraus hervorgeht, dass der Absorptionsstreifen des Urobilin bestehen bleibt, ja eher noch stärker wird.

Das Schlesingersche Zinkreagens ist eine 10%ige alkoholische Lösung von Zinkacetat. Das Zinkacetat löst sich aber nur zu 2% in absolutem Alkohol. Mit einer 2%igen Zinkacetatlösung kann aber die Fluoreszenzprobe versagen. Man muss daher darauf achten, dass von dem ungelösten Zinkacetat ein entsprechender Teil bei der Reaktion mit zur Benutzung kommt. Man muss also das Reagens vor dem Gebrauch ordentlich umschütteln.

Hat der zu untersuchende Harn stark sedimentiert, so muss man durch Umschütteln dafür sorgen, dass der Bodensatz sich wieder gleichmässig verteilt, da das Sediment (namentlich das Uratsediment) beträchtliche Mengen Urobilin enthalten kann. Die Reaktion beruht darauf, dass einmal durch die alkoholische Zinksalzlösung verschiedene Substanzen, unter anderem auch Farbstoffe gefällt werden, dass andererseits das Zinksalz des Urobilin durch den Alkohol in Lösung gehalten wird.

Die Reaktion ist schärfer wie die Jafféschc Probe. Nach Schlesinger bei 2 : 100 000 im Harn noch deutlich.

Gallenfarbstoffhaltige Harne kann man direkt auch ohne vorhergegangene Klärung untersuchen. Nur bei sehr grossem Bilirubingehalt empfiehlt Schlesinger die vorherige Ausfällung des Bilirubins nach Bouma (s. S. 1361).

Man nimmt 8 ccm frischen, sauer reagierenden Harn und vermischt mit 2 ccm 10%igem Calciumchlorid; der saure Harn bleibt vollständig klar. Die saure Reaktion wird nunmehr vorsichtig abgestumpft durch tropfenweise Zufügung einer schwachen Ammoniaklösung. Sobald die Reaktion beinahe neutral ist (man muss dafür sorgen, dass sie nicht alkalisch wird, da dann auch Urobilin mitgefällt wird), bildet sich ein Niederschlag, wonach man zentrifugiert und die klare Flüssigkeit abgiesst. Falls der Harn Urobilin enthält, zeigt die Flüssigkeit den typischen Absorptionsstreifen des Urobilins.

Zu gleichem Zwecke empfiehlt Denigès [1]) 10 ccm Harn mit 5 ccm einer Lösung von Mercurisulfat auszufällen, welche durch Lösen von 5 g Quecksilberoxyd in 20 ccm Schwefelsäure und 100 ccm Wasser hergestellt worden ist. Bei diesem Verfahren werden die störenden Farbstoffe, auch die Gallenfarbstoffe, niedergeschlagen, welche nach 5 Minuten langem Stehen abzufiltrieren sind. In dem klaren Filtrat ist dann der Streifen des Mercuri-Urobilins (B. 4. b.) sichtbar.

Grimbert [2]) vereinigt die Verfahren von Denigès und von Roman und Delluc (s. später). 30 ccm Harn werden mit 20 ccm Denigèsschem Reagens gemischt und der entstandene Niederschlag nach 5 Minuten abfiltriert. Das Filtrat wird mit Chloroform ausgeschüttelt und die Chloroformlösung tropfenweise mit dem Zinkreagens von Roman und Delluc (S. 1395) bis zum Eintreten einer schwachen Trübung (ca. 10 Tropfen) versetzt. Beim Klarwerden der Flüssigkeit erscheint dann die für Urobilin charakteristische grüne Fluorescenz.

Blanc und Rameau [3]) empfehlen dieses Verfahren von Grimbert. Bei normalem Harn tritt nur eine sehr geringe grüne Fluorescenz auf. Sie empfehlen bei Untersuchung des normalen Harnes die tägliche Harnmenge zu berücksichtigen.

---

[1]) Denigès, Journ. de pharm. et de chimie [6] 5. 395; Chem. Zentralbl. 1. 1129. 1897.

[2]) L. Grimbert, Journ. Pharm. Chim. [6] 19. 425. 1904.

[3]) Blanc und Rameau, Ann. Chim. analyt. appl. 14. 217. 1909.

Digitized by Google

Da die pro die ausgeschiedenen Urobilinmengen einigermassen konstant sind, soll man bei grosser Harnmenge mehr Harn zur Untersuchung nehmen. Sie nehmen statt 30 ccm $\frac{30 \times \text{die in 24 Stunden abgeschiedene Harnmenge}}{\text{die in 24 Stunden abgeschieden normale Harnmenge}}$. Auch lassen sie statt 5 Minuten 10 Minuten stehen, ehe sie filtrieren.

II. Durch Extraktion des Urobilins.

1. Als vorzüglich erweist sich die zuerst von Nencki und Sieber empfohlene, dann wieder von Nencki und Rotschy[1]) in Vorschlag gebrachte Behandlung des Harns mit Amylalkohol.

Es werden 10—20 ccm Harn mit einigen Tropfen Salzsäure versetzt und mit 6—10 ccm Amylalkohol sanft ausgeschüttelt. Die klare amylalkoholische Lösung wird abgehoben und spektroskopisch untersucht. Fügt man ihr einige Tropfen einer klaren Lösung von 1 g Chlorzink in 100 g stark ammoniakalischem Alkohol zu, so tritt eine prächtige grüne Fluorescenz auf und der Absorptionsstreifen δ wird sichtbar.

Das Ansäuern des Harns ist überflüssig. — Der Amylalkohol bildet mit dem Harn bei einigermassen starkem Schütteln eine sehr beständige Emulsion, und man muss dann oft sehr lange warten, ehe man eine für die Untersuchung genügende Schicht Amylalkohol abheben kann. Die Scheidung gelingt aber nach Huppert sofort, wenn man die Emulsion auf ein mit Amylalkohol benetztes Filter bringt. Es filtriert dann Harn und Amylalkohol zugleich, der Alkohol befindet sich aber im Filtrat als klare Schicht auf der wässerigen Lösung. — Nach Strauss[2]) gelingt die Extraktion leichter, wenn man vor dem Ausschütteln mit Amylalkohol den Harn mit ¼ Volum 10%iger Bleizuckerlösung fällt.

Ausser dem Urobilin gehen nach Riva und Zoja auch noch Uroerythrin und Hämatoporphyrin in Lösung, welche aber den Nachweis des Urobilins nicht stören.

2. Statt des Amylalkohols bedient sich Wirsing[3]) des Chloroforms. Die Probe scheint nicht so empfindlich zu sein wie die mit Amylalkohol.

Der Harn wird mit einigen Kubikzentimeter Chloroform durch langsames Umdrehen des Reagenzglases mehrere Minuten gemischt und das Chloroform darauf mit so viel einer Lösung von Chlorzink in absolutem Alkohol versetzt, bis die anfangs entstehende Trübung wieder verschwunden ist; oder es werden dem Chloroform einige Tropfen wässeriger Chlorzinklösung und darauf Alkohol bis zur Klärung hinzugefügt. Äusserst selten ist es nötig, noch mit einigen Tropfen Ammoniak oder Kaliumhydrat alkalisch zu machen und dann zu filtrieren. Es tritt eine prachtvolle grüne Fluorescenz im auffallenden Licht, eine rosen- oder pfirsichrote Färbung im durchfallenden Lichte auf; die Fluorescenz nimmt nach längerem Stehen noch zu. Die Absorptionsstreifen sind in der von Chlorzink sauren (chemisch neutralen) und der alkalischen Lösung (nach Zusatz des Alkalihydrates) scharf ausgesprochen. — In urobilinarmen Harnen versagt diese Probe.

Verfahren von Roman und Delluc[4]). Man schüttelt 100 ccm Harn mit 8—10 Tropfen reiner HCl und 20 ccm Chloroform. Auf 2 ccm der Chloroformlösung wird eine Lösung von 1 g krystallisiertem Zinkacetat in 1 Liter

---

[1]) M. Nencki und N. Sieber, Journ. f. prakt. Ch. [2] **26**. 336. 1882. — M. Nencki und A. Rotschy, Monatshefte f. Ch. **10**. 573. 1889.

[2]) E. Strauss, Münchener med. Wochenschr. **55**. 2537. 1908.

[3]) E. Wirsing, Akute gelbe Leberatrophie mit günstigem Ausgang. Aus den Verhandl. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg [2] **26**. Würzburg, Stahelsche Buchh. 1892. 34.

[4]) Th. Roman und G. Delluc, Journ. Pharm. Chim. [6] **12**. 49. 1900.

Digitized by Google

95%igem Alkohol geschichtet. Betrachtet man die Grenzfläche gegen einen dunklen Hintergrund, so sieht man bei Urobilinharnen einen grünen Ring. Beim Durchschütteln verbreitet sich der grüne Schein über die ganze Flüssigkeit, die im auffallenden Licht rosa erscheint.

Das Chloroform nimmt auch das Urobilinogen auf und auf der Gegenwart desselben beruhen zum Teil folgende von C. Gerhardt[1]) angegebenen Reaktionen.

Versetzt man den Chloroformauszug mit Jod-Jodkalium und schüttelt darauf mit verdünnter Kalilauge, so färbt sich diese gelb bis gelbbraun und fluoresciert prachtvoll grün. Natronlauge statt Kalilauge gibt eine goldgelbe bis zimmetfarbene, in dünnen Schichten schön pfirsichrote Lösung. Ammoniak wird nur blassgelb mit einem leichten Stich ins Grünliche. — Zusatz von Chlorwasser zu dem Chloroformauszug ruft rasch hintereinander gelb und rot, dann langsamer blassblau hervor; nur das gelbe Produkt liefert mit Kalilauge die grüne Fluorescenz. — Chlor erzeugt dieselbe Farbenfolge auch in einem Chloroformauszug, der nur das Chromogen des Urobilins und noch nicht den Farbstoff selbst enthält.

3. Nach Grigaut[2]) werden 10—20 ccm Harn mit 10 ccm folgender Lösung versetzt: Eisenchlorid offic. 5 Tropfen, Essigsäure 10%ig 20 ccm, Wasser 80 ccm. Die Mischung wird mit Natriumsulfat gesättigt und in einer Porzellanschale unter Umschütteln erhitzt. Darauf wird filtriert; das Urobilin wird im Filtrat durch Schütteln mit Chloroform nachgewiesen.

4. 50 ccm Harn werden nach Gautier und Monod[3]) möglichst frisch mit 3—4 Tropfen konz. Essigsäure versetzt bis zur deutlich sauren Reaktion Dann wird unter Schütteln je ein Tropfen 1%ige Jodtinktur auf 2 ccm Harn zugesetzt. Dann wird das Ganze mit 5 ccm Thymolchloroform stark geschüttelt. Der Chloroformauszug wird mit dem gleichen Volum einer alkoholischen Zinkacetatlösung (Alkohol 93% = 500 ccm, Zinkacetat 3 g, reine Essigsäure 2 ccm; filtrieren) versetzt, filtriert und geschüttelt. Bei Anwesenheit von Urobilin stellt sich eine schöne grüne Fluorescenz ein.

Diese beiden letzteren Verfahren haben den Vorteil, dass das Urobilinogen bei denselben durch Oxydation in Urobilin übergeführt wird.

5. Schüttelt man Harn mit 90%iger Phenollösung (Acid. carbol. liquefactum), so nimmt nach Kramm[4]) das Phenol mit anderen Farbstoffen auch das Urobilin auf.

Nachdem eine Scheidung der Flüssigkeiten eingetreten ist, hebt man den aufschwimmenden Harn ab, schüttelt das Phenol mit dem doppelten Volumen Äther und etwas Wasser und klärt durch einige Tropfen Alkohol. Die Lösung zeigt entweder direkt oder nach dem Abgiessen und Verdunsten des Äthers den Urobilinstreifen und auf Zusatz von Chlorzink und Ammoniak die grüne Fluoreszenz.

---

[1]) C. Gerhardt, a. a. O.
[2]) R. Grigaut, Compt. rend. soc. biol. **66**. 725. 1909.
[3]) Cl. Gautier und F. O. Monod, Soc. Biol. **66**. 211. 1909.
[4]) W. Kramm, Deutsche med. Wochenschr. **2**. 27. 1896.

Digitized by Google

6. Auch der Äther lässt sich mit Vorteil zur Extraktion des Urobilins aus Harn verwenden; doch steht er wohl den beiden zuerst erwähnten Extraktionsmitteln nach.

Salkowski hat die Angabe gemacht, dass es manchmal gelingt, dem Harn direkt durch sanftes Umschütteln mit dem halben Volumen alkoholfreiem Äther Urobilin zu entziehen, welches dann beim Verdunsten des Äthers zurückbleibt; Gegenwart von Alkohol oder von Essigsäure sollen aber diesen Nachweis verhindern. Grimm dagegen hat sich des käuflichen Äthers zum Auffinden des Urobilins im Harn ohne Anstand bedienen können. Den Harn vor der Behandlung mit Äther mit reiner rauchender Salzsäure zu kochen, wie Grimbert [1]) empfiehlt, ist wohl überflüssig.

7. Essigäther entzieht dem mit Essigsäure angesäuerten Harn nach Saillet (C. III. 2.) leicht Urobilin. Florence benutzt das zum Nachweis, indem er den Essigätherextrakt spektroskopisch untersuchte. — Guigues [2]) schlägt vor, erst mit Ammoniumsulfat auszusalzen; nach 24 Stunden wird abfiltriert, mit konz. Ammonsulfatlösung gewaschen, im Vakuum über H_2SO_4 und CaO getrocknet. Dieser Trockenrückstand wird mit siedendem Essigäther erschöpft und die Lösung spektroskopiert.

8. Das von Garrod und Hopkins zur Darstellung von Urobilin angegebene Verfahren (C. III. 1.) erweist sich insofern vorteilhaft für den Nachweis, als es auch in urobilinarmen Harnen das Urobilin noch auffinden lässt.

Die Extraktionen versagen manchmal. Bei einer von Hammarsten ausgeführten Untersuchung von Sulfonalharn entzogen Äther oder Chloroform dem angesäuerten Harn keinen Farbstoff, Amylalkohol aber einen braunen, der kein Urobilin war, wiewohl im Bleiniederschlag des Harns Urobilin nachgewiesen werden konnte. — Quincke hat einen Sulfonalharn mit einem Absorptionsband von b—F untersucht, ohne dass Amylalkohol, Chloroform, Äther den Farbstoff aufnahm. Hoppe-Seyler [3]) fällte melanotischen Harn erst mit Bleizucker, dann mit Bleiessig, zersetzte den Bleiessigniederschlag mit Natriumcarbonat und neutralisierte die Lösung mit Schwefelsäure. Es wurde so ein brauner, im Wasser leicht löslicher Körper gewonnen, der sich spektroskopisch wie Urobilin verhielt, in Äthylalkohol löslich war, aber nicht in Chloroform. Braune Substanzen, deren Lösungen fluorescierten, aber kein Urobilinspektrum darboten, sind öfter beobachtet worden.

9. Florence [4]) schlägt folgendes Extraktionsverfahren vor: Man giesst in eine Reagenzröhre 2—3 ccm Harn und das doppelte Volum folgenden Reagenzes: Pyridin 50 g, Alkohol 50 g, Chloroform 50 g, Zinkacetat 7,5 g. Man schüttelt ohne Emulsion zu bewirken und lässt

[1]) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Ch. 4. 134. — F. Grimm, Virchows Archiv 132. 250. 1893. — Grimbert, Journ. de pharm. et de chimie 18. 481; Chem. Zentralbl. 1889. 36.

[2]) Florence, Journ. Pharm. Chim. [6] 27. 145. 1908. — P. Guigues, Bull. des scienc. Pharm. 16. 86. 1909; Chem. Zentralbl. 1. 1273. 1909.

[3]) O. Hammarsten, Skandinav. Arch. f. Physiol. 3. 334. 1892. — H. Quincke, Berliner klin. Wochenschr. 36. 1892. Jahresb. f. Tierch. 22. 534. — F. Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Ch. 15. 186. 1891.

[4]) A. Florence, Journ.-Pharm. Chim. (7). 2. 160. 1910.

Digitized by Google

nachher stehen. Es bilden sich zwei Schichten, wovon die untere farblos bleibt, wenn der Harn keine abnormen Pigmente enthält. Bei Vorhandensein von Urobilin im Harn zeigt diese Schicht eine grüne Fluorescenz. Die Anwesenheit von Urobilinogen gibt der unteren Schicht allmählich eine grüne Fluorescenz. Bei Anwesenheit von Bilirubin ist diese Schicht grünlich und wird bald fluorescent. Enthält der Harn Blut, so färbt sich die Schicht rosa bis kirschrot. In allen Fällen erhält man schöne Spektren.

10. Nach A. Morel und O. Monod[1]) werden 2—3 ccm Harn mit dem 10fachen Volum 95%igen Alkohol vermischt und auf dem Wasserbad am Rückflusskühler gekocht. Der Alkohol wird dann abgegossen und auf dem Wasserbad auf 3 ccm eingeengt. Diesem Rückstand werden nach dem Abkühlen 1 Tropfen hundertfach verdünntes Obermayersches Reagens, dann 2 ccm folgender Lösung hinzugegeben: Zinc. acet. 1,0, Äthylalkohol (95%ig) 100 ccm, Acid. acet. bis zum Verschwinden der Trübung. Das Ganze wird 24 Stunden stehen gelassen, dann filtriert. Das Filtrat wird im Lichtkegel eines durch eine starke Bogenlampe beleuchteten, konvergierenden optischen Systems untersucht. Bei Gegenwart von Urobilin sieht man deutlich grüne Fluorescenz.

11. Zum Nachweis des fertig gebildeten Urobilins neben dem Urobilinogen eignet sich das Verfahren von Saillet (C. III. 2.).

Der frisch gelassene, im Dunkeln gehaltene Harn wird mit Essigsäure angesäuert und mit dem gleichen Volumen Essigäther ausgeschüttelt. Wasser entzieht dem Essigäther das bereits vorhandene Urobilin und färbt sich dabei braun. Das im Essigäther gebliebene Urobilinogen wird im Sonnenlicht (an der Luft) zu Urobilin.

12. Eine sichere Unterscheidung des Urobilins von Choletelin liesse sich mittels einer spektrophotometrischen Untersuchung erreichen, wenn zwischen beiden Farbstoffen in den Absorptionsverhältnissen in verschiedenen Spektralbezirken Unterschiede vorhanden wären, wie zwischen dem Hydrobilirubin und dem Choletelin (S. 1354). Vielleicht eignet sich zu einer solchen Untersuchung der neben dem Urobilin vorhandene Farbstoff (D. II. 11.).

E. Bestimmung des Urobilins.

1. Spektrophotometrisch.

A. Nach Fr. Müller[1]).

A. Prinzip. Nachdem aus dem Harn durch alkalische Barytlösung etwa vorhandener Gallenfarbstoff und andere Farbstoffe (Hämato-

[1]) A. Morel und O. Monod. Compt. rend. soc. biol. 64. 205. 1908.

[2]) Fr. Müller, bei Gerhardt, Über Hydrobilirubin. Diss. Berlin 1889, und briefliche Mitteilung.

Digitized by Google

porphyrin) gefällt worden sind, wird das Filtrat nach Beseitigung des überschüssigen Baryts bei deutlich saurer Reaktion mit Ammonsulfat gesättigt, der Niederschlag, in welchem das Urobilin enthalten ist, unter Zusatz von Schwefelsäure mit Äther-Alkohol ausgekocht und in der Lösung der Gehalt an Farbstoff spektrophotometrisch ermittelt. Es wird dasjenige Urobilin gefunden, welches als solches im Harn enthalten ist und das, welches sich im Verlauf der Untersuchung bildet.

B. Erfordernisse.

1. Eine Mischung von 1 Volumen gesättigter Chlorbariumlösung mit 2 Volumen gesättigtem Bariumhydrat.

2. Eine Mischung von 1 Volumen Äther mit 2 Volumen Alkohol von 96%.

C. Ausführung. Nach den Angaben von Fr. Müller und nach Hupperts Erfahrung verfährt man folgendermassen. Von Harn mittlerer Konzentration werden 100 ccm mit 30 ccm der Barytmischung versetzt; ist der Harn nur wenig gefärbt, so nimmt man von ihm mehr in Arbeit; sehr dunkler Harn wird vor der Fällung auf das Doppelte verdünnt. Nach dem Zusatz von Barytmischung soll die Flüssigkeit alkalisch reagieren. Für die weitere Verarbeitung ist ein doppelter Weg möglich; man filtriert und wäscht den Barytniederschlag mit heissem Wasser aus, wodurch dem Niederschlag das Urobilin bis auf einen kleinen Rest entzogen wird, oder man benützt vom Filtrat nur die Hälfte des Gesamtvolumens (bei Verwendung von 100 ccm Harn also 65 ccm), wobei freilich, wegen des grossen Volumens des Barytniederschlages, das Resultat nicht sehr genau ausfallen kann. Aus dem Filtrat entfernt man den überschüssigen Baryt mit konzentrierter Natriumsulfatlösung, säuert mit Schwefelsäure schwach an und sättigt das Filtrat mit Ammonsulfat vollständig. Bei unvollständiger Sättigung fällt nicht alles Urobilin aus. Man bringt den gefällten Farbstoff ohne viel Salz auf ein Faltenfilter, spült den Rest des dem rückständigen Salz noch beigemengten Urobilins mit dem Filtrat auch auf das Filter und übergiesst das Filter zuletzt mit gesättigter Ammonsulfatlösung. Durch Schwenken des Gefässes mit dem rückständigen Salz lässt sich an der Wand haftender Farbstoff leicht ablösen. Man lässt das Filter entweder im Trichter oder auf Fliesspapier oberflächlich trocken werden und kocht es dann in einer Kochflasche mit aufgesetztem Kondensations- oder Kühlrohr nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure mit Ätheralkohol aus.

Das Volumen der ätherisch-alkoholischen Lösung wird gemessen, an ihr spektrophotometrisch zwischen dem mittleren und rechten Drittel des Urobilinstreifens die übrig bleibende Lichtstärke J′ bestimmt und aus dieser, wenn sie zur Verfügung steht, mit Hilfe der Vierordtschen

Digitized by Google

Tafel der Exstinktionskoeffizient ε berechnet nach — log J′ = ε. Der Exstinktionskoeffizient ist direkt proportional der Konzentration der Lösung. Unter Berücksichtigung des Volumens der ätherisch-alkoholischen Lösung und des in Arbeit genommenen Harnvolumens lässt sich ε auf den Harn übertragen. Aus ε findet man den Gehalt des Harns an Urobilin c nach c = ε A, wo A das Absorptionsverhältnis bedeutet. (Vgl. S. 58 ff.) Das Absorptionsverhältnis des Urobilins war damals nicht bekannt; Fr. Müller hat statt desselben das des Hydrobilirubins genommen, welches nach Vierordt für E 63 F—E 80 F 0,0551 beträgt, wenn man als Konzentration nicht die Anzahl der im ccm enthaltenen g, sondern mg annimmt. — Inzwischen hat Charnas (s. später S. 1411) das Absorptionsverhältnis des reinen Urobilins festgestellt (s. auch Tsuchiya S. 1404).

Am genauesten fallen die Bestimmungen nach Fr. Müller aus, wenn J′ zwischen 15 und 30 beträgt; für stärkere Konzentrationen ist das Gesichtsfeld zu dunkel, für geringere (etwa J′ = 50) werden die Fehler zu gross. Der grösste Fehler der Ablesung betrug 8,7%; bei vielen Ablesungen (10 und mehr) glichen sich die Fehler nahezu ganz aus. Es lassen sich noch sehr geringe Mengen (0,0048 und 0,0053 mg im ccm) mit ziemlicher Sicherheit (auf 8,3%) bestimmen.

Damit man bloss das präformierte Urobilin bestimme, empfiehlt Fr. Müller, möglichst frischen Harn zu verwenden oder ihn bei nur schwach saurer oder alkalischer Reaktion aufzubewahren.

Urobilinogen wird durch Baryt nicht gefällt. Da es bei Gegenwart von freier Säure in Urobilin übergeht, so wird es gleichwohl schwer fallen, es bei diesen Bestimmungen auszuschliessen.

Weitere bei dem Verfahren berücksichtigungswerte Umstände siehe S. 1388.

B. Nach Saillet[1]).

A. Prinzip. Die Bestimmung beruht darauf, dass der Streifen des sauren Urobilins in einer 15 mm dicken Schicht einer Lösung gerade noch wahrnehmbar ist, wenn die Lösung in 22 ccm 1 mg enthält, d. i. bei 10 mm dicker Schicht 6,82 mg in 100 ccm, wie beim Hämatoporphyrin. Diese Schätzung ist abhängig von der Lichtstärke, der Güte des Spektroskops und der Lichtempfindlichkeit des beobachtenden Auges.

Frisch gelassener oder im Dunkeln aufbewahrter Harn wird (wenigstens 100 ccm) mit Essigsäure angesäuert und (bei Petroleumlicht) zweimal mit dem gleichen Volumen Essigäther geschüttelt. Die vereinigten Auszüge, welche das Urobilinogen bis auf Spuren enthalten,

[1]) Saillet, Revue de méd. 17. 124. 1897.

Digitized by Google

werden mit Wasser gewaschen, bis das Wasser farblos bleibt, wobei man Essigsäure hinzufügen soll, wenn das Waschen oft wiederholt werden muss. Durch das Waschen wird das bereits vorhandene Urobilin mit anderen Farbstoffen entfernt. Um das im Essigäther zurückgebliebene Urobilinogen in Urobilin überzuführen, bringt man die Lösung in Sonnenlicht und fügt ihr 1—2% Salpetersäure zu. Man übersättigt mit Ammoniak und schüttelt mit so oft erneuten kleinen Mengen Wasser, als sich das Wasser noch färbt. Die Lösung, welche neben dem Urobilin auch das Hämatoporphyrin enthält, wird mit Salzsäure stark angesäuert und soweit mit gemessenen Mengen Wasser verdünnt, bis γ des Urobilins gerade noch sichtbar ist.

2. Kolorimetrisch.

Alle in Vorschlag gebrachten Verfahrungsweisen ergeben nur unsichere Werte.

A. Nach Viglezio [1]).

Es werden 300 ccm Harn angesäuert und durch Auflösen von 230—240 g Ammonsulfat in demselben mit dem Salz gesättigt. Der entstandene Niederschlag von Urobilin (und Hämatoporphyrin) wird auf einem Filter mit gesättigter Ammonsulfatlösung gewaschen, dann mit 100—300 ccm Alkohol extrahiert. Dann bringt man 10 ccm Alkohol von 60% in ein Reagenzglas, setzt 2 Tropfen Ammoniak und 2 Tropfen einer Chlorzinklösung von 1—2% hinzu und lässt nun von dem alkoholischen Auszug aus einer Bürette so viel zufliessen, bis zuerst grüne Fluorescenz und später auch der Absorptionsstreifen des Urobilinzinks auftritt; bis dahin braucht man ungefähr 3 mal so viel alkoholische Lösung als bis zum Erscheinen der Fluorescenz. Von Alkohol, welcher in 100 ccm 0,01 g Jaffésches Urobilin enthielt, verbrauchte Viglezio 0,5 ccm bis zum Eintritt der Fluorescenz und 1,6 ccm bis zum Erscheinen des Absorptionsstreifens. Diese Zahlen werden der Berechnung des Urobilingehaltes des Harns zugrunde gelegt.

B. Nach A. Studensky [2]).

Man versetzt 20 ccm Harn mit $^1/_{10}$ Volumen gesättigter Kupfersulfatlösung, löst in dem Gemisch Ammonsulfat bis zur Sättigung und schüttelt in einem Scheidetrichter mit 10 ccm Chloroform. Der Zusatz von Kupfersulfat geschieht, weil durch das Salz das Urobilin in Freiheit gesetzt und so angeblich vollständiger abgeschieden wird, als durch Ammonsulfat allein. Sobald sich eine Schicht kupferrotes Chloroform abgesetzt hat, lässt man sie in ein Reagenzglas fliessen und sucht von bereit gehaltenen Lösungen von Urobilin in Chloroform mit bekanntem Gehalt diejenige aus, welche ebenso stark gefärbt ist, wie die aus dem Harn gewonnene Probe. Die zum Vergleich dienenden Urobilinlösungen werden in derselben Weise hergestellt, wie bei der Analyse des Harns; in einer abgemessenen Menge der Lösung wird durch Verdunsten des Chloroforms und Wägen des bei 90—100° getrockneten Rückstandes der Gehalt an Urobilin bestimmt und durch Verdünnen mit Chloroform Lösungen verschiedener Konzentration hergestellt. Man bewahrt sie mit gesättigter Ammonsulfatlösung gut verstöpselt auf.

---

[1]) Viglezio, Lo sperimentale 1891. 235; Jahresber. f. Tierch. 22. 537.

[2]) A. Studensky, Petersburger med. Wochenschr. 1893. 283; Chem. Zentralbl. 2. 668. 1893.

Digitized by Google

C. Nach F. Grimm [1]).

Es werden 10 ccm angesäuerter Harn mit Äther oder mit Chloroform geschüttelt, der Auszug verdunstet, der Rückstand in Ammoniakwasser gelöst und mit einigen Tropfen einer verdünnten Chlorzinklösung versetzt, worauf die Flüssigkeit die grüne Fluorescenz zeigt. Man verdünnt dann mit gemessenen Mengen Wasser, bis die Fluorescenz gerade noch deutlich wahrnehmbar ist; man kann dabei so verfahren, dass man ein Reagenzglas bei 5 und bei 10 ccm mit einer Marke versieht, die ursprüngliche Lösung auf 10 ccm bringt, die Hälfte entfernt und durch Wasser ersetzt usf. Man erfährt so einigermassen den relativen Gehalt verschiedener Harne an Urobilin.

3. Gewichtsanalytisch nach G. Hoppe-Seyler [2]).

A. Prinzip. Das Verfahren beruht, wie das von Fr. Müller, auf der Unlöslichkeit des Urobilins in gesättigter Ammonsulfatlösung; der Harn wird direkt mit dem Ammonsalz gesättigt. Etwa vorhandener Gallenfarbstoff wird zuvor durch Fällen des Harns mit Kalkmilch und Einleiten von Kohlensäure entfernt und danach der Niederschlag gut ausgewaschen; es unterbleibt aber, im Gegensatz zu dem Verfahren von Fr. Müller, die Behandlung des Harns mit Baryt und damit die Beseitigung des gleichfalls durch Ammonsulfat fällbaren Hämatoporphyrins, dessen Bedeutung für die Analyse der Harnfarbstoffe bei der Ausarbeitung des Verfahrens noch nicht bekannt war. Vergleichende Untersuchungen ergaben darum Fr. Müller [3]) nach dem Verfahren von Hoppe-Seyler auch meist erheblich grössere Werte als nach seinem eigenen. In dieser Hinsicht ist die Methode also verbesserungsfähig.

B. Ausführung. Es werden 100 ccm Harn mit Schwefelsäure angesäuert und mit Ammonsulfat gesättigt; filtriert darf erst nach längerer Zeit werden, weil das Urobilinogen nur langsam in Urobilin übergeht. Der flockige rote Niederschlag wird auf einem Filter mit konzentrierter Ammonsulfatlösung gewaschen, abgepresst und zweimal hintereinander mit einer Mischung von Chloroform und Alkohol nach gleichem Volumen ausgezogen. Das ungelöst Gebliebene ist zwar gewöhnlich noch bräunlich, gibt aber auch an andere Lösungsmittel, wie Amylalkohol, kein Urobilin mehr ab.

Die Auszüge filtriert man in einen Scheidetrichter, schüttelt mit (etwa dem doppelten Volumen) Wasser, lässt das Chloroform, nachdem es sich klar abgesetzt hat (durch ein kleines Filter), in ein gewogenes Becherglas fliessen, verdunstet das Chloroform, wäscht es mit etwas Äther, filtriert und löst den Filterrückstand in Alkohol. Diese alkoholische Lösung verdunstet man in dem gewogenen Becherglas, trocknet und wägt.

---

[1]) F. Grimm, Virchows Archiv **132**. 250. 1893.
[2]) G. Hoppe-Seyler, Virchows Archiv **124**. 34. 1891.
[3]) Fr. Müller, briefliche Mitteilung an Huppert.

Digitized by Google

Der mehr oder minder gelbliche bis rotbraune Rückstand löst sich zwar gut in Chloroform, besteht aber zum Teil aus „verändertem" Urobilin. Bei schneller Arbeit und wenn nicht über 100⁰ getrocknet wird, erhält man nach Hoppe-Seyler einen Farbstoff mit allen Eigenschaften des Urobilins.

4. Durch Verdünnung.

Zur quantitativen Bestimmung, d. h. zu einer für viele klinische Zwecke genügenden annähernden Schätzung, kann man die sehr scharfe Schlesingersche Probe benutzen, indem man den Grad der Verdünnung bestimmt, bei dem die Reaktion eben nicht mehr auftritt (Schlesinger, Fischler)[1]).

Der zu untersuchende Harn wird mit dem halben Volum alkoholische konzentrierte Zinkacetatlösung (s. vorher) versetzt, tüchtig geschüttelt und filtriert. Trübt sich das Filtrat bei erneutem Zusatz von Zinkacetatlösung, so wird dieselbe Prozedur noch einmal wiederholt, bis keine Trübung mit Zinkacetat mehr auftritt. Das Filtrat lässt man einige Stunden am Licht stehen, um das Urobilinogen in Urobilin überzuführen. Man kann auch, um die wiederholten Verdünnungen zu vermeiden, Zinkacetat in Substanz hinzusetzen, falls die erste Fällung unvollständig ist. Die Reaktion muss nunmehr schwach alkalisch sein, andernfalls setzt man 1—2 Tropfen Ammoniak hinzu. Falls beim Stehen eine Trübung eingetreten ist, verschwindet dieselbe meist auf Zusatz weniger Tropfen verdünnter Salzsäure, die dann vorsichtig mit wenigen Tropfen Ammoniak wieder übersättigt wird. Das Fluorescenzoptimum liegt nahe einer schwach alkalischen Grenze. Die Flüssigkeit wird nun mit Alkohol oder auch mit Wasser verdünnt, bis die Fluorescenz eben nicht mehr nachweisbar ist. Der Nachweis der Fluorescenz geschieht, indem man mit einer Sammellinse einen Lichtkegel in die Flüssigkeit hereinfallen lässt. Am besten benutzt man Sonnenlicht. Bei künstlicher Lichtquelle arbeitet man zweckmässig im Dunkelzimmer und stets mit der gleichen Lichtquelle. Die Möglichkeit des Nachweises liegt für die Fluorescenzprobe bei 0,002%.

Diese Grenze gilt nur für reine Bilirubinpräparate. Im Harn, wo das Bilirubin mit anderen Pigmenten und Substanzen gemischt ist, wird die Fluorescenzprobe mehr oder weniger beeinträchtigt. Gallenfarbstoff dürfte aber für gewöhnlich nicht beträchtlich stören. Es kann sich also nur um eine Annäherungsprobe bzw. Vergleichprobe handeln.

[1]) H. Schlesinger, Deutsche med. Wochenschr. 1903. 313. — F. Fischler, Hab.-Schrift. Heidelberg 1907. 90 S. m. 1 Tafel.

Digitized by Google

Unter Umständen liesse sich die Verdünnungsprobe auch nach vorheriger Isolierung des Urobilins anstellen.

Alle bisher aufgezählten Methoden zur Bestimmung des Urobilin sind mit beträchtlichen Fehlerquellen verknüpft. Nach Charnas kann eine exakte Urobilinbestimmung nur in der Weise gemacht werden, dass zunächst das Urobilin in Urobilinogen übergeführt wird und dieses dann quantitativ bestimmt wird (s. dort).

5. Spektrophotometrisch.

Verfahren von Tsuchiya[1]) (s. auch Bestimmung des Urobilin nach Charnas bei Urobilinogen).

100 ccm Harn werden zur Entfernung der Harnsäure und des Hämatoporphyrins mit 2 Vol. gesättigtem Barytwasser und 1 Vol. gesättigter Bariumchloridlösung versetzt. — Von verdünntem Harn nehme man 150 ccm, von konzentriertem Harn nur 50 ccm und verdünne auf 100 ccm. — Die Lösung wird vom Barytniederschlag abfiltriert und im Filtrat das überschüssige $Ba(OH_2)$ mit konzentrierter Natriumsulfatlösung entfernt. Die Flüssigkeit wird mit Schwefelsäure neutralisiert und mit gepulvertem Ammoniumsulfat gesättigt. Der den Farbstoff enthaltende Niederschlag wird mit konzentrierter Ammoniumsulfatlösung ausgewaschen. Nach oberflächlichem Trocknen wird der Farbstoff nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure mit einer Mischung von 1 Tropfen Äther und 2 Tropfen Alkohol extrahiert und bis zu einer bestimmten Konzentration eingedampft. Dann wird in einem abgemessenen Volum der Extinktionskoeffizient spektrophotometrisch bestimmt. Aus dieser ätherisch-alkoholischen Lösung kann man eine wässerig-alkalische Lösung derart herstellen, dass man die alkoholisch-ätherische Lösung in Chloroform einträgt, die Chloroformlösung mit Wasser ausschüttelt und mit verdünntem wässerigem Ammoniak das Urobilin aus dem Chloroform extrahiert.

Das Absorptionsverhältnis einer wässerig-alkalischen Urobilinlösung beträgt nach Tsuchiya 0,029806, das Absorptionsverhältnis einer ätherisch-alkoholischen Lösung 0,031825. Diese Werte sind viel grösser wie die von Charnas für das Absorptionsverhältnis angegebenen (A = 0,000017). (S. 1385.)

II. Urobilinogen.

Es sind zwei Chromogene bekannt, aus welchen man durch Oxydationsmittel Urobilin erhalten kann. Das eine ist im Harn enthalten,

[1]) Tsuchiya. Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap. 7. 352. 1910.

Digitized by Google

das andere bildet sich bei der Reduktion von Urobilin und verwandten Substanzen. Um diesen Unterschied auszudrücken, nannte Huppert das natürliche Chromogen Urobilinogen, das künstliche, nach Analogie von Indigweiss, Urobilinweiss.

A. Vorkommen. Normaler, frisch gelassener, vor dem Sonnenlicht geschützter Harn enthält nach Saillet niemals Urobilin, sondern nur Urobilinogen; es lässt sich ihm nach dem Ansäuern mit Essigsäure durch Essigäther kein Urobilin entziehen, und der Niederschlag, welchen der mit Essigsäure versetzte Harn beim Sättigen mit Ammonsulfat gibt, enthält kein Urobilin. Das Urobilinogen geht unter gleichzeitiger Einwirkung des Sonnenlichts (Saillet) und des atmosphärischen Sauerstoffs (Jaffé[1]) in Urobilin über.

Bereits Jaffé wies in ganz frischem Harn in vielen Fällen ($^2/_3$ der untersuchten) das Chromogen, aber neben Urobilin, nach; von Zoja u. a. wurde auch manchmal das Urobilin in frischem Harn ganz vermisst und nur Urobilinogen aufgefunden; solcher Harn wird beim Stehen (an der Luft und im Licht) dunkler und dann lässt sich Urobilin in ihm nachweisen. Frische Harne, in welchen sich bei direkter Untersuchung mit dem Spektroskop kein Urobilin auffinden lässt, zeigen öfter den Urobilinstreifen, nachdem sie beim Stehen dunkler geworden sind (Jaffé, Disqué). Für die wenigstens sehr häufige, vielleicht ausschliessliche Gegenwart von Urobilinogen im Harn spricht auch der Umstand, dass das farblose oder schwach gelbe Filtrat von Harn, der mit den Bleiacetaten ausgefällt war, sich an der Luft von oben her wieder dunkel färbt (Bogomoloff, Külz, A. Bornträger) und dann wieder Urobilin enthält (Hammarsten). — Auch Münzer und Bloch[2]) kamen zu dem Ergebnis, dass das Urobilin nicht als solches, sondern als Urobilinogen ausgeschieden wird.

Fischer u. Meyer-Betz[3]) isolierten Urobilinogen aus pathologischen Harnen, die mit Bicarbonat versetzt waren, durch Ausschütteln mit Chloroform. Das so erhaltene Urobilinogen halten sie für identisch mit ihrem Hemibilirubin (s. dort).

B. Eigenschaften. 1. Das Urobilinogen ist farblos oder nach Saillet sehr schwach gefärbt und besitzt kein Absorptionsband. Das Chromogen lässt sich dem (mit Essigsäure angesäuerten) Harn durch Schütteln mit Essigäther (Saillet), Chloroform (C. Gerhardt), Äthyläther, Amylalkohol, Terpentinöl und ähnlichen Lösungsmitteln, gleichzeitig mit dem etwa vorhandenen Urobilin entziehen (Riva und Zoja). Nach Charnas[4]) genügt ein einmaliges Ausschütteln mit Äther, um

[1]) Jaffé, Virchows Archiv 47. 422. 1869.

[2]) L. Zoja, Arch. ital. di clinica medica 1893. 33. — Bogomoloff, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1875. 210. — Külz, Diabetes mellitus 1874. 35. — A. Bornträger, Zeitschr. f. analyt. Ch. 20. 88. 1881. — Hammarsten, Skandin. Archiv 3. 322. 1892. — E. Münzer und F. Bloch, Arch. f. Verdauungskrankh. 17. 260. 1911. — L. Disqué, Ztschr. f. physiol. Ch. 2. 259. 1878.

[3]) H. Fischer u. F. Meyer-Betz, Zeitschr. f. phys. Chem. 75. 232. 1911.

[4]) C. Gerhardt, Sitzungsber. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg 1881. 26. — A. Riva und L. Zoja, Communicaziona al primo congresso ital. di medicina interna 1888. — D. Charnas, Biochem. Zeitschr. 20. 401. 1909.

Digitized by Google

eine mit Weinsteinsäure angesäuerte Urobilinogenlösung quantitativ zu extrahieren. Wasser entzieht der Essigätherlösung das Urobilinogen nicht.

2. Durch Sättigen des Harns mit Ammonsulfat fällt es zugleich mit dem schon vorhandenen Urobilin aus.

Verwendet man dazu frischen Harn und zum Aussalzen neutrales Ammonsulfat, so zeigt der mit absolutem Alkohol bereitete Auszug des Niederschlages nach Eichholz [1]) nur ein sehr schwaches und schmales Urobilinband in der Lage von γ, das auf Zusatz einiger weniger Tropfen Salzsäure dunkler und breiter wird; einmal zeigte die Lösung überhaupt erst auf Zusatz von Säure das Band.

Mit dem Chromogen des Urobilins wird beim Sättigen des Harns mit Ammonsulfat nach Garrod und Hopkins [2]) zugleich, wenn es vorhanden ist, das Chromogen des Uroroseins gefällt und beim Ansäuern des alkoholischen Auszuges entsteht dann Urorosein. Der dabei sichtbar werdende Streifen besitzt die Lage wie der des Uroroseins, verschwindet, wenn man die Lösung alkalisch macht, und tritt beim Ansäuern wieder auf. Der rote Farbstoff wird von Chloroform aufgenommen. — Unter denselben Verhältnissen sah Eichholz neben dem typischen Urobilinband ein anderes bei D 64 F—D 96 F auftreten, welches seiner Lage nach wohl eher dem sauren Hämatoporphyrin angehört.

Die Bleiacetate fällen das Urobilinogen nicht oder unvollständig, auch durch abwechselnden Zusatz von Bariumnitrat und Natriumcarbonat zu Harn wird es nach Hammarsten nicht oder wenigstens nicht ganz niedergeschlagen. Aus den Bleiniederschlägen geht bei der Behandlung derselben aber nicht das Chromogen, sondern Urobilin in Lösung (Rabuteau, Esoff, Disqué, Thomas [3]). — Im Gegensatz zu diesen Angaben fand Charnas das Urobilinogen aus saurem und neutralem Harn durch basisches Bleiacetat quantitativ fällbar. Dem Niederschlage konnte das Urobilinogen durch essigsäurehaltigen Alkohol leicht entzogen werden.

Das Urobilinogen ist sehr unbeständig. Sein Übergang in Urobilin vollzieht sich nach Saillet im direkten Sonnenlicht in einigen Minuten, in zerstreutem Tageslicht in einigen Stunden.

Die verschiedenen Lichtarten sind nicht gleichwertig. Setzt man die Wirkung des Sonnenlichtes = 100, so ist die des roten Lichtes 25, die des gelben 78, des grünen 72, des blauen 94, des violetten 99 (Saillet).

Mineralsäuren, weniger die Essigsäure, beschleunigen die Bildung des Urobilins aus Urobilinogen sowohl im Harn wie, nach Saillet, in der Essigätherlösung; schnell bewirkt Ammoniak die Umwandlung (Saillet). Nach Charnas verhält sich Weinsäure besonders günstig. Eine schnelle Oxydation oder Zersetzung ist bei ihr nicht zu befürchten; die Weinsäure ist in Äther ganz unlöslich. In den oben genannten, mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmitteln lässt

[1]) A. Eichholz, Journ. of Physiol. 14. 327. 1893.

[2]) Garrod und Hopkins, a. a. O. 135.

[3]) Rabuteau, Gaz. méd. de Paris 27. 1875. — J. Esoff, Pflügers Archiv 12. 50. 1876. — Disqué, a. a. O. — K. Thomas, Diss. Freiburg i. Br. 1907.

Digitized by Google

Urobilinogen sich durch oxydierende Substanzen leicht in Urobilin überführen, in Chloroform durch Jod (Gerhardt) oder Salpetersäure (Riva und Zoja), auch in Essigätherlösung (Saillet). Auch Permanganat sowie Eisenchlorid bewirkt diese Oxydation. Dagegen kann man eine Essigätherlösung des Urobilinogens kochen, ohne dass es sich verändert.

Als einen Unterschied zwischen dem Urobilinogen und dem Urobilinweiss hebt Eichholz [1]) hervor, dass auf Zusatz von Natriumhydrat zu einer Urobilinogenlösung das Urobilinband auch bei Abwesenheit von Luft sofort auftritt, während das Urobilinweiss dabei zu seiner Umwandlung in Urobilin Sauerstoff bedarf.

Mit Rücksicht auf die vermutliche Identität von Hemibilirubin und Urobilinogen haben Fischer u. P. Meyer[2]) das Hemibilirubin genauer untersucht.

Das Hemibilirubin ist ausserordentlich empfindlich gegen Luft, Licht und alle Reagentien, besonders Säuren. Es tritt in zwei Formen auf, einer „aciden" und einer „nicht aciden". Die nicht acide Form ist das reine Hemibilirubin. Die acide Form entwickelt mit Bicarbonat Kohlensäure und schmilzt viel niedriger.

Der Schmelzpunkt des reinen, „nicht aciden" Bilirubin liegt bei 186—190^0. Das Molekurlargewicht wurde zu 565—593 bestimmt. Die früher aufgestellte Formel wäre zu verdoppeln (s. vorher S. 1372). Die Analysen stimmen am besten zu einer Formel $C_{33}H_{44}N_4O_6$. Durch Oxydation wurde ebenso wie aus dem „Körper II" Hämatinsäure als Imid und Methyläthylmaleinimid isoliert. Der Reduktionsprozess mit Amalgam ist durchaus nicht so einfach wie man früher annahm.

Urobilinogen gibt mit p-Dimethylaminobenzaldehyd bei saurer Reaktion eine Rotfärbung; mit Sulfodiazobenzol gibt es die „eigelbe Diazoreaktion" (s. bei Nachweis). Beide Reaktionen gibt das Urobilin nicht.

C. Nachweis. Num direkten Nachweis dient die Ehrlichsche Reaktion mit Aldehyd und die „eigelbe Diazoreaktion". Zum indirekten Nachweis wird die Überführung in Urobilin und dessen Nachweis benutzt.

1. Die Reaktion Ehrlichs mit Aldehyd.

α) Ursprüngliche Form der Reaktion.

Die Reaktion wird angestellt, indem man eine Lösung von 2% p-Dimethylaminobenzaldehyd in Normalsalzsäure zu Harn hinzugibt. In normalem Harn tritt eine leichte Rotfärbung ein. In manchen patho-

[1]) Eichholz, a. a. O. 331.

[2]) H. Fischer u. P. Meyer, Zeitschr. f. phys. Chem. 75. 339. 1911.

Digitized by Google

logischen Harnen tritt dagegen eine intensiv rote Farbe auf (Ehrlich[1]). Die volle Intensität der Reaktion erhält man erst beim Aufkochen, wenngleich manche Harne auch schon in der Kälte sich deutlich röten. Bei sehr geringem Urobilingehalt tritt trotz Aufkochens die volle Intensität der Färbung erst nach einigen Minuten ein.

Neubauer führte den Nachweis, dass diese Reaktion im Harn auf der Gegenwart von Urobilinogen beruht. Zu dem gleichen Ergebnis kam unabhängig davon Hildebrandt[2]). Das Urobilin gibt die Reaktion dagegen nicht. Die Aldehydgruppe reagiert bei dieser Reaktion. Das geht daraus hervor, dass wenn eine Urobilinogenlösung mit Formaldehyd oder einem anderen aliphatischen Aldehyd versetzt wird, die Lösung mit Benzaldehyd nicht mehr reagiert. Es wird so durch den aliphatischen Aldehyd die Reaktionsstelle verstopft (Ehrlich).

In welcher Weise das Urobilinogen und der Aldehyd miteinander reagieren, ist nicht sicher gestellt, trotz eingehender Untersuchungen von Neubauer, Hildebrandt, Thomas. Wahrscheinlich beruht die Reaktion in der Kondensation des Benzaldehyd mit einem oder mehreren Pyrrolkernen (Thomas, Feist)[3]).

Neubauer fand, dass Hämopyrrol und Pyrrol eine ähnliche Reaktion geben.

Nach Fischer u. Meyer-Betz[4]) entsteht zuerst ein farbloser Körper, eine Leukobase, der dann sekundär erst in den Farbstoff übergeht. Sie führen eine ganze Reihe von Stoffen auf, welche die Ehrlichsche Aldehydreaktion geben (s. vorher), und zwar alle nicht stabilen Pyrrole, die ein an einem Ring-C-Atom nicht substituiertes H-Atom besitzen. Nach ihren Untersuchungen ist der zugrunde liegende Farbstoff ein Dipyrrylphenylmethanfarbstoff, der sekundär aus der zugehörigen Leukobase hervorgeht.

Der entstehende Farbstoff kann durch Chlorhydrin (Epichlorhydrin und Dichlorhydrin), durch Amylalkohol und Chloroform der wässerigen Lösung entzogen werden. Der durch Aussalzen isolierte Farbstoff ist in Wasser, absolutem Alkohol, Aether aceticus, Amylalkohol, Chloroform, Dichlorhydrin, Pyridin, Eisessig sehr gut löslich, in Methylalkohol, Aceton, Anilin, o-Toluidin, Phenol gut löslich, in Äther, Petroläther, Schwefelkohlenstoff, Benzol, Xylol, Äthylenbromid, Paraffin nicht löslich. — Der Farbstoff ist in den gesättigten Lösungen der verschiedenen Salze verschieden leicht löslich und lässt sich daher durch sie mehr oder minder vollkommen aussalzen. Fast vollständig lässt sich der Farb-

[1]) P. Ehrlich, Med. Woche 1901. Nr. 15.

[2]) O. Neubauer, Münchener med. Wochenschr. 1846. 1903. — Hildebrandt, Zeitschr. f. klin. Med. 59. 351. 1906.

[3]) K. Thomas, Diss. med. Freiburg i. B. 1907. — Feist, Ber. d. chem. Gesellsch. 35. 1647. 1902.

[4]) H. Fischer u. F. Meyer-Betz, Zeitschr. f. phys. Chem. 75. 253. 1911.

Digitized by Google

stoff aus saurer (salz- oder schwefelsaurer) Lösung durch Sättigen mit Natriumsulfat oder Ammoniumsulfat aussalzen. Etwas weniger wirksam ist Magnesiumsulfat und Kaliumchlorid (Thomas).

Die schön dunkelrote Lösung wird nach Zusatz von Alkali sofort schmutzig gelbbraun. Nach kurzer Zeit kann beim Ansäuern die rote Farbe nicht wieder erzeugt werden (Thomas). Bei Zusatz von Pikrinsäure lässt sich der Farbstoff als amorpher, brauner Niederschlag ausfällen, der sich in Amylalkohol dann wieder mit granatroter Farbe löst (Pröscher)[1].

Der Farbstoff zeigt ein charakteristisches Absorptionsspektrum. Um über dieses Spektrum Klarheit zu bekommen, sind besondere Vorsichtsmassregeln erforderlich (s. später bei Modifikation von Charnas); nach Rhode[2]) sind zwei Streifen bei dieser Reaktion zu beobachten, ein breiter verwaschener bei λ 615—570 und ein schwächerer undeutlicher bei λ 555—540. Pröscher hatte noch einen dritten Streifen im Grün beschrieben, der aber nach Neubauer auf Urobilin zu beziehen ist.

Bei Anstellung dieser Reaktion in der oben beschriebenen Weise, wie sie von Ehrlich, Pröscher, Neubauer, Bauer[3]) angestellt wurde, vollzieht sich gleichzeitig durch die Einwirkung der im Reagens enthaltenen Salzsäure eine Oxydation des Urobilinogen zu Urobilin. Dies ist namentlich beim Erwärmen der Fall.

Nach Münzer und Bloch[4]) ist die rote Urobilinogenverbindung haltbar, wenn man das Benzaldehyd in essigsaurer Lösung verwendet. Benutzt man Amylalkohol zum Ausschütteln des Farbstoffes, so muss derselbe auf seine Reaktionslosigkeit geprüft, event. durch Filtration durch Tierkohle gereinigt werden.

β) Modifikation der Probe von Charnas[5]).

10—20 ccm Harn werden mit Weinsäure versetzt und mit 20 bis 30 ccm reinem Äther kräftig durchgeschüttelt, wobei niemals Emulsionen entstehen. Der Harn wird abgelassen (eventuell der Äther etwas mit Wasser nachgewaschen und das Wasser wieder abgelassen). Nunmehr wird der Ätherextrakt mit einer kleinen Messerspitze Dimethylparamidobenzaldehyd versetzt, das sich sofort löst. Nunmehr wird reine rauchende Salzsäure (etwa 5 Tropfen) hinzugegeben; besser ist es, statt dessen mit Salzsäuregas gesättigten absoluten Alkohol zu be-

[1]) Pröscher, Zeitschr. f. physiol. Ch. **31**. 520. 1901.
[2]) E. Rhode, Zeitschr. f. physiol. Ch. **44**. 161. 1905.
[3]) P. Ehrlich, Deutsche med. Wochenschr. 1884. Nr. 27. — R. Bauer, Zentralbl. f. inn. Med. **26**. 833. 1905.
[4]) E. Münzer und F. Bloch, Arch. f. Verdauungskrankh. **17**. 260. 1911.
[5]) D. Charnas, Biochem. Zeitschr. **20**. 401. 1909; ferner ausführliche briefliche Zusätze.

Digitized by Google

nutzen, der aber nur etwa 2 Wochen haltbar ist. Es entsteht nach Zusatz von wenig Wasser eine prachtvolle, reine, violette Lösung, deren Spektrum einen Streifen bei λ 567—552 zeigt, ohne den Urobilinstreifen. Schon in normalem Harn ist Urobilin so leicht nachweisbar.

Durch diese Modifikation ist also die Nebenwirkung der Säure (s. oben) vermieden.

Ein etwas abweichendes Verfahren hat Charnas zunächst veröffentlicht. Er setzt dabei zu der ätherischen Urobilinogenlösung eine gesättigte ätherische Lösung des Aldehyds, gibt dann einige Tropfen mit Salzsäure gesättigten absoluten Alkohol hinzu, schüttelt 2 Minuten lang und verdünnt dann mit Alkohol. Die Farbstoffbildung verläuft hierbei quantitativ. Der Farbstoff ist lange haltbar.

2. Die eigelbe Diazoreaktion des Harns.

Die Reaktion wurde von Ehrlich angegeben mit anderen Diazoreaktionen des Harns (s. Abschnitt „Diazoreaktion" bei Proteinsäuren). Versetzt man Harn mit einer sauren Lösung von Sulfodiazobenzol, so tritt in manchen Fällen eine intensive Orangefärbung auf. Bei Zusatz von Ammoniak macht das Orange einem intensiven Zitronengelb Platz.

Später haben sich Petri, Oppenheim, Gualdi[1]) mit dieser Reaktion befasst, ohne feststellen zu können, auf welchem Stoff diese Reaktion beruht. Ehrlich war der Meinung, dass es sich um ein Gallenfarbstoffderivat handle.

Thomas[2]) konnte feststellen, dass überall, wo die Ehrlichsche Aldehydreaktion — s. vorher — positiv ist, auch diese „Eigelbreaktion" positiv ist. Der Essigätherextrakt des Harns, nach Saillet hergestellt, gibt mit der sauren Diazolösung Orangefärbung; die eigelbe Farbe beim Zusatz von Alkali wird hier aber verdeckt von der roten Diazoreaktion, die andere Stoffe geben, die ebenfalls in den Essigätherextrakt übergehen.

D. Darstellung. Zur Darstellung des Urobilinogens benutzt Charnas die Extraktion mit Äther nach Ansäuern des Harns mit Weinsäure.

Harn wird mit Weinsäure angesäuert und portionenweise mit dem mehrfachen Volum Äther geschüttelt. Der Äther wird mit kleinen Portionen Wasser gewaschen. Ist die Ätherlösung gefärbt (durch Blutfarbstoffderivate u. dgl.), so wird der Äther zunächst im Vakuum eingeengt und dann durch Zusatz des gleichen Volum Petroläther entfärbt.

[1]) Petri, Zeitschr. f. klin. Med. 7. 500. 1884. — Oppenheim, Über die gelbe Diazoreaktion. Diss. med. Berlin 1885. — Gualdi, Riforma med. Roma 19. 740. 1904.

[2]) K. Thomas, Diss. med. Freiburg 1907; sowie Zeitschr. f. klin. Med. 64. 247. 1907.

Digitized by Google

Diese äther-petrolätherische Urobilinogenlösung ist relativ haltbar; erst im Verlaufe von Wochen erfährt der Chromogengehalt eine merkliche Abnahme.

Das Urobilinogen wird aus dieser ätherischen Lösung durch Tierkohle kräftig absorbiert. Der Tierkohle kann das Urobilinogen durch Ammoniak als Urobilin entzogen werden. Die ätherische Lösung kann zur Darstellung sehr reinen Urobilins benutzt werden.

E. Bestimmung des Urobilinogens. Die Bestimmung des Urobilinogens wird nach Charnas vorgenommen, indem man durch Ausäthern das Urobilinogen isoliert. Dann wird das Urobilinogen in Urobilin übergeführt und als solches bestimmt. Näheres siehe bei Urobilin.

Bestimmung des Urobilinogens bzw. Urobilins nach Charnas.

A. Prinzip. Der urobilinhaltige Harn wird zur Überführung des Urobilins in Urobilinogen (s. S. 1386) vergoren, mit Weinsäure angesäuert und ausgeäthert. Die Urobilinogenlösung wird, wenn nötig, durch Petroläther von anderen Farbstoffen befreit. Sodann wird das Urobilinogen entweder direkt mit Hilfe der Ehrlichschen Aldehydreaktion quantitativ bestimmt oder durch Belichtung in Urobilin übergeführt, dieses durch Aussalzen weiter gereinigt und zur Wägung gebracht.

Auch ist es möglich, durch Bestimmung des Absorptionsverhältnisses das Urobilin zu bestimmen. (Letzteren Weg zieht Charnas neuerdings vor [briefliche Mitteilung].)

Ausführung. 500—1000 ccm Harn (bei Konzentration von etwa 0,02 g im Liter genügen 50—100 ccm) werden bis zum Eintritt alkalischer Reaktion mit Ammoniumcarbonatlösung versetzt und 1—2 Tage im Brütofen gelassen. Nunmehr wird der Harn in einem sehr geräumigen offenen Gefäss durch Zusatz einer gesättigten Weinsäurelösung stark sauer gemacht (heftiges Aufschäumen!), ein etwa ausfallender Niederschlag schnell abfiltriert oder abgesaugt und die Flüssigkeit mit dem $1^1/_2$—2 fachen Volum Äther geschüttelt. Emulsionen treten hierbei nicht auf. Die Ätherschicht wird wiederholt mit kleinen Mengen Wasser gewaschen. — In Anbetracht der grossen Zersetzlichkeit des Urobilinogen müssen die Operationen ohne Unterbrechung durchgeführt werden, und ist jedes unnötige Schütteln zu vermeiden. Auch soll das Waschwasser und die Weinsäurelösung frisch ausgekocht und womöglich die ganze Arbeit bei künstlicher Beleuchtung ausgeführt werden.

Digitized by Google

Sollte die Ätherlösung stark gefärbt sein (z. B. bei Blutgehalt des Harns), so wird das gleiche Volum Petroläther hinzugefügt und der sich abscheidende Farbstoff durch wenig Wasser entfernt. In der nunmehr nahezu farblosen ätherischen (bzw. ätherisch-petrolätherischen) Lösung wird nun das Urobilinogen bestimmt.

a) Spektrophotometrisch. 1. Erstes Verfahren. Die Ätherlösung wird abgemessen, und dann werden 1 oder 2 ccm der Ätherlösung mit 0,2—0,5 ccm einer kaltgesättigten Lösung von Dimethylparaamidobenzaldehyd in einem 100 ccm fassenden, mit eingeschliffenem Stöpsel versehenen Messzylinder gemischt, 2—3 Tröpfchen mit trockenem Salzsäuregas gesättigter, absoluter Alkohol hinzugefügt und 2—3 Min. kräftig geschüttelt. Es wird dann sofort mit einer passenden Menge Alkohol auf ein bestimmtes Volumen verdünnt und in den Trog (Schulzscher Trog s. S. 56) des Spektrophotometers übertragen. — Die Messung erfolgt im Bereich des dunkelsten Teiles des Absorptionsstreifens (λ 550—570). Die Berechnung erfolgt nach der Formel $C = AE$, wobei E den Mittelwert der gefundenen Extinktionskoeffizienten darstellt und $A = 0{,}000017$ zu setzen ist. C bedeutet dann das Gewicht des Urobilinogen in Grammen.

Bei sehr geringem Urobilinogengehalt ist anders vorzugehen (z. B. bei normalen Harnen). 10 ccm der Ätherlösung werden im Messcylinder mit 0,2 bis 0,3 ccm der gesättigten Aldehydlösung und 2—4 Tröpfchen der alkoholischen Salzsäure versetzt, 2 Minuten geschüttelt und nunmehr eine passende Menge (mindestens 2 ccm) Wasser hinzugefügt. Nunmehr ist der ganze Farbstoff in der wässerigen Schicht enthalten, während der überstehende Äther farblos ist und abgegossen wird. Die wässerige Lösung wird nun spektrophotometrisch bestimmt (Konzentrationsverfahren).

2. Zweites Verfahren. Neuerdings empfiehlt Charnas (briefliche Mitteilung) das Urobilinogen in Urobilin überzuführen und das Urobilin dann spektrophotometrisch zu bestimmen. Der Harn wird zunächst wie oben beschrieben behandelt. Die ätherische bzw. ätherisch-petrolätherische Lösung wird nunmehr belichtet, bis eben Urobilin frei wird und dann mit reinem Wasser ausgeschüttelt, so lange dasselbe Farbstoff aufnimmt. Alkali und Alkohol wurden nicht hinzugesetzt. Das echte Urobilin ist, wenn noch nicht weiter behandelt, relativ gut löslich in Wasser (zu 0,0335%). In dem Äther bleiben Spuren von Urobilinmodifikationen, ferner fremde, unbekannte spektrumlose Farbstoffe, eventuell Säuren, Arzneistoffe etc. zurück. — Man salzt nunmehr nach etwa einstündigem Durchsaugen von Luft oder besser von CO_2, da durch Luft eine allerdings geringfügige Abnahme des Extinktionskoeffizienten erfolgt, mit reinstem Ammoniumsulfat aus (käufliches enthält Eisen und andere am Filter bleibende Stoffe), was quantitativ geht, so dass das Filtrat farblos ist. Man löst den Niederschlag wieder auf und zwar in wenig Natriumbicarbonatlösung. Der Nieder-

Digitized by Google

schlag ist inzwischen wesentlich weniger wasserlöslich geworden. Die Lösung wird mit Salzsäure angesäuert und wieder mit Ammoniumsulfat ausgesalzen und mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung gewaschen bis zur Chlorfreiheit. Nunmehr wird im Vakuum getrocknet. Bis zu diesem Punkt bleibt die Extinktionskraft des Urobilin fast intakt. — Zur Bestimmung des Absorptionsvermögens wird mit absolutem Alkohol aufgenommen und sofort mit Wasser verdünnt. Für das Absorptionsvermögen A gilt der Mittelwert 0,0000165.

b) Gewichtsanalytisch. Die ätherische Urobilinogenlösung wird im Scheidetrichter mit dem gleichen Volum reinen Wassers zusammengebracht und nunmehr einen Tag lang am Sonnenlichte stehen gelassen. Durch die Aldehydreaktion kann man sich in einer Probe vom Verschwinden des Urobilinogen überzeugen. Erfahrungsgemäss genügt ein Tag. Längeres Stehen in der Sonne entfärbt das Urobilin. Das Urobilin wird beim Umschütteln leicht vom Wasser aufgenommen. Die abgetrennte wässerige Lösung wird filtriert, mit reinstem Ammoniumsulfat in Substanz gesättigt, der Niederschlag auf einem dichten Filter (z. B. Schleicher und Schüll Nr. 602) gesammelt, lufttrocken mit möglichst wenig absolutem Alkohol extrahiert, die abfiltrierte alkoholische Lösung in einem gewogenen Schälchen über Phosphorpentoxyd im Vakuum bei Zimmertemperatur getrocknet und der trockene Urobilinrückstand gewogen.

Digitized by Google

Zufällige Bestandteile.

Von der grossen Zahl der zufälligen Harnbestandteile werden hier nur solche berücksichtigt, welche häufiger im Harn auftreten, physiologisches oder klinisches Interesse besitzen und für deren Nachweis oder Bestimmung besondere Methoden ausgearbeitet worden sind; ein Teil der übrigen hat bei der Besprechung der normalen und pathologischen Bestandteile des Harns beiläufige Erwähnung gefunden.

I. Teil.

Anorganische Körper.

Von K. Spiro-Strassburg i. E.

A. Metalle.

Zur Auffindung der schweren Metalle im Harn muss man dieselben Methoden befolgen, welche zur Entdeckung derselben in gerichtlichen Fällen angewandt werden; es wird deshalb auf die einschlägigen Handbücher verwiesen. Für einzelne der Metalle sind eigene Methoden zum Nachweis derselben im Harn angegeben worden.

1. Quecksilber.

A. Vorkommen. Je nach der Art der Darreichung erscheint das eingeführte Quecksilber früher oder später im Harn: am schnellsten, nach Stunden, bei intravenöser oder subkutaner Injektion; langsamer, am ersten Tage noch, bei interner Darreichung oder Einreibung; endlich nach 1—2 Tagen erst bei Inhalation. Die Ausscheidung selbst ist protrahiert, so dass nach grösseren Quecksilberkuren das Metall noch monatelang, spurenweise sogar noch jahrelang nachgewiesen werden kann.

Digitized by Google

Bezüglich des Einflusses der Applikationsart auf den Verlauf der Ausscheidung fand E. Bürgi[1]):

Der Hg-Gehalt des Urines nimmt bei der Schmierkur von minimalen doch wägbaren Mengen ansteigend allmählich sehr gleichmässig zu, ohne indessen jemals hohe Werte zu erreichen; ähnlich verhält er sich bei der Welanderschen Säckchenbehandlung, ist hier aber noch etwas geringfügiger und grösseren täglichen Schwankungen unterworfen. Bei der internen Verabreichung ist er ungleich beträchtlicher (namentlich sehr hoch bei Gebrauch von Kalomel in abführenden Dosen), aber individuell sehr verschieden und von unregelmässig wechselnder Grösse; er beträgt bei der intramuskulären Injektion von löslichen und von unlöslichen Salzen während der Kur etwa 25 % des Eingeführten. Da aber dem Körper mit den ersteren täglich, aber wenig, mit den letzteren nur zweimal in der Woche, aber jedesmal sehr viel Quecksilber einverleibt wird und die Hauptausscheidung des Metalles immer auf den Tag der Injektion fällt, nimmt der Hg-Gehalt des Urines bei subkutanen Einspritzungen löslicher Salze, von ganz kleinen Anfangswerten ausgehend, einen allmählich ansteigenden, gleichförmigen Verlauf (wie bei der Schmierkur), ist dagegen bei hypodermatischen Injektionen unlöslicher Salze sehr beträchtlich (höher als bei irgend einer anderen Behandlung), aber bedeutenden regelmässig wiederkehrenden Schwankungen unterworfen, also von ausgesprochen wellenförmigem Charakter. Bei den intravenösen Sublimatinjektionen nach Bacelli findet man den kleinen Gaben entsprechend wenig Quecksilber im Harne, doch steigt die Ausscheidung des Metalles sehr rasch zu ihrer maximalen Höhe an und beträgt während der Behandlung 60 % des Eingeführten. In den drei einer Kur mit Injektionen von salizylsaurem Quecksilber nachfolgenden Monaten wurden noch ca. 10 % der eingegebenen Menge durch die Nieren eliminiert. In den meisten Fällen konnte eine deutliche Vermehrung der Diurese durch die Quecksilberbehandlung nachgewiesen werden.

B. Eigenschaften. Für die Erkennung und Bestimmung des Quecksilbers kommen hauptsächlich die beiden folgenden in Betracht:

1. Kupfer, Zink und Eisen fällen Quecksilber aus seinen Salzlösungen:

$$HgCl_2 + Fe = FeCl_2 + Hg.$$

Bringt man einen Tropfen Merkuri- oder Merkurosalz auf ein Stück blankes Kupferblech, so entsteht ein grauer Fleck, der nach dem Trocknen und Reiben silberglänzend wirkt.

2. Zinn-Chlorür reduziert Merkurisalze zunächst zu weissem unlöslichem Merkurochlorid (Kalomel) und bei weiterer Einwirkung zu Metall.

$$2HgCl_2 + SnCl_2 = 2HgCl + SnCl_4$$
$$2HgCl + SnCl_2 = 2Hg + SnCl_4.$$

Das metallische Quecksilber scheidet sich dabei als graues Pulver ab. Giesst man die überstehende Flüssigkeit ab und kocht den Rückstand mit verdünnter Salzsäure, so erhält man das Quecksilber in deutlich sichtbaren Tropfen.

3. Fein verteiltes Quecksilber wird durch Joddampf in rotes Quecksilberjodid verwandelt.

---

[1]) E. Bürgi, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **54**. 439. 1906; Arch. f. Derm. u. Syph. **79**. 134.

Digitized by Google

4. Schwefelwasserstoff erzeugt in Merkurisalzlösungen eine zunächst weisse, dann durch gelb über braun in schwarz übergehende Fällung:

$$HgCl_2 + H_2S = HgS + 2HCl.$$

Das Quecksilbersulfid ist in verdünnten kochenden Säuren unlöslich.

5. Eine Reihe von Quecksilbersalzen, z. B. Merkurichlorid und -jodid sublimieren und sind flüchtig.

C. Nachweis. Wie E. Ludwig dargetan hat, lässt sich das Quecksilber aus dem Harn in einfachster Weise abscheiden, wenn man ihn angesäuert mit metallischem Zink oder Kupfer einige Zeit in Berührung lässt (s. B. 1.). Aus dem gebildeten Amalgam wird das Quecksilber durch Erhitzen in ein Kapillarrohr getrieben und in diesem nach Schneider durch Joddampf in rotes Quecksilberjodid übergeführt und so kenntlich gemacht (s. B. 3.).

Ludwig verwendete Zinkstaub (6 g auf das Liter Harn), Fürbringer eine kleine Menge Messingwolle (in schmale Streifen zerschnittenes Rauschgold.) Teubner sowie Paschkis unächtes Blattgold, F. Müller stark ausgeglühte Kupferfeilspäne, Wolff und Nega Kupferblech, Almén ausgeglühten sehr feinen Kupfer- oder besser Messingdraht, Brasse Messingdrahtnetz, Winternitz Kupferdrahtnetz, Jolles gekörntes Gold. Wolff lässt die Flüssigkeit an einem aus dünnen galvanisch vergoldeten Silberfäden gefertigten Pinsel, der die Kathode einer Batterie bildet, sehr langsam vorüberfliessen. Für den qualitativen Nachweis hält Huppert das unechte Blattglod für das passendste Material. Zinkpulver hält Bondzyński[1]) darum nicht für geeignet, weil es, bei einem Gehalt an Cadmium auch in so niederer Hitze, wie es für das Sublimieren des Quecksilbers erforderlich ist, einen Spiegel vom Aussehen des sublimierten Quecksilbers gibt.

Nach Schumacher und Jung stellt man den Goldasbest dar, indem man chemisch reines Gold in Königswasser löst und die Goldchloridlösung so lange eindampft, bis nur noch wenig freie Säure vorhanden ist. In diese Lösung gibt man gereinigte feine Asbestfäden und lässt diese, nachdem sie genügend mit der Goldlösung durchtränkt sind, abtropfen. Dann werden sie in einem Rosetiegel auf dem Sandbad getrocknet. Nun wird der Tiegel über freier Flamme allmählich stark erhitzt, während von oben mit dem Porzellanröhrchen ein Strom reinsten Wasserstoffs trocken eingeleitet wird. Nach 15 Minuten wird der Asbest mit Salzsäure und Wasser gereinigt, getrocknet und in ein Ludwigsches Filter in der Art gebracht, dass zu unterst eine Schicht Asbest,

[1]) E. Ludwig, Wien. med. Jahrbüch. 1877. 143; Zeitschr. f. analyt. Ch. **17.** 395; Med. Jahrbüch. 1880. 493; Zeitschr. f. analyt. Ch. **20.** 475. — P. Fürbringer, Berl. klin. Wochenschr. 1878. 332. — E. Teubner, Österr. Zeitschr. f. Berg- u. Hüttenwesen, **27.** 423; Zeitschr. f. anal. Ch. **19.** 198. 1880. — H. Paschkis, Zeitschr. f. physiol. Ch. **6.** 501. 1882. — F. Müller, Mitteil. a. d. med. Klin. zu Würzburg **2.** 358. 1886. — A. Wolff u. J. Nega, Deutsche med. Wochenschr. 1886. 256. 272; Zeitschr. f. analyt. Ch. **26.** 116. — A. Almén, Jahresb. f. Tierch 1886. 221; Zeitschr. f. analyt. Ch. **26.** 669. 1887. — L. Brasse, Comptes rendus de la Soc. de Biol. 1887. 297; Revue de méd. **8.** 325. 1888. — R. Winternitz, Arch. f. exp. Path. **25.** 229. 1898. — C. H. Wolff, Repert. f. analyt. Ch. 3. 1883; Zeitschr. f. analyt. Ch. **23.** 593. — A. Jolles, Monatsh. f. Ch. **16.** 684. 1895. — St. Bondzyński, Zeitschr. f. anal. Ch. **32.** 302.

Digitized by Google

dann eine Schicht Goldasbest, dann eine Lage körnig schwammiges Gold, dann eine zweite Schicht Goldasbest kommt.

Man nimmt ungefähr 500 cc Harn (vom Menschen) in Arbeit und zwar, worauf neuerdings wieder Brening hingewiesen hat, unfiltrierten und unverdünnten Harn. Nach Winternitz muss man dem Harn mindestens 0,04 Volumen konzentrierte Salzsäure zusetzen, wenn in ihm nicht Quecksilber zurückbleiben soll; man nimmt deshalb mehr Säure als das Minimum (bis 0,1 Volumen). Der Harn wird mit dem Metall einige Zeit (1 Stunde) auf dem Wasserbad erwärmt, dann noch mehrere Stunden stehen gelassen, darauf das Metall, um anhaftende organische Substanz zu entfernen, welche bei dem späteren Erhitzen des Metalls ein brenzliches Destillat geben würde, mit sehr verdünnter Natronlauge gewaschen (Paschkis) oder auch in der Wärme damit behandelt, weiter nacheinander mit Wasser, mit Alkohol und mit Äther gewaschen und trocknen gelassen.

Eine vorherige Zerstörung der organischen Substanz ist beim Menschenharn nach Paschkis überflüssig, beim Hundeharn nach Böhm [1]) aber unerlässlich, weil sonst der grösste Teil (bis über 80 %) des Quecksilbers mit dem auf Zusatz von Salzsäure entstehenden Niederschlag ausgefällt und so der Reaktion entzogen wird. Böhm nimmt die Oxydation in der Weise vor, dass er den Hundeharn mit $\frac{1}{3}$ Volumen Salzsäure von 1,12 Dichte auf dem Wasserbad erwärmt und alle 15 Minuten 0,5—3 g chlorsaures Kali zusetzt. Das überschüssige Chlor muss vor dem Eintragen des Metalls vollständig entfernt werden, wozu ein 9—10stündiges Erwärmen auf dem Wasserbad bei einer 60° nicht erreichenden Wärme erforderlich ist. Darnach wird filtriert und bei quantitativem Versuche unbedingt das Filter säurefrei gewaschen. Zucker- und eiweisshaltiger Harn lässt sich gleichfalls zu dem Versuch verwenden, nur stark schleimiger eignet sich schlecht (Fürbringer). — Ist der Harn sehr arm an Quecksilber, so soll man ihn nach Almen mit wenig überschüssiger Natronlauge mit oder ohne Zusatz eines reduzierenden Zuckers $\frac{1}{4}$ Stunde im Sieden erhalten, den Phosphatniederschlag, welcher das Quecksilber enthält, in Salzsäure lösen und dem angegebenen Verfahren unterwerfen. Nach Schillberg [2]) kann sich bei längerem Kochen etwas Quecksilber mit den Wasserdämpfen verflüchtigen; es genügt aber auch ein nur mehrere Minuten dauerndes Kochen.

Jodide sollen nach Schillberg die Ablagerung des Quecksilbers auf dem Metall verhindern; man fällt daher bei Gegenwart solcher den Harn mit Alkalihydrat nach Almén und wäscht den Niederschlag mit wenig Wasser jodfrei.

Das gereinigte und trockene, den Quecksilberbeschlag tragende Metall bringt man in ein dickwandiges, an dem einen Ende zugeschmolzenes Glasrohr, dessen Länge und Weite sich nach dem Volumen des Metalls richtet. Man zieht das offene Ende zu einer offenen Kapillare aus, die jedoch nicht so eng sein darf, dass sie durch die später allenfalls auftretende geringe Wassermenge ganz verschlossen würde, weil das Wasser sublimiertes Quecksilber herausschleudern könnte. Das Rohr wird dann, von seinem geschlossenen Ende an bis zum Anfang der Kapillare, über einem einfachen Gasbrenner erhitzt, wobei ein wenig Wasser, dann Quecksilber und wohl auch andere Substanzen (Zinkoxyd aus dem Messing etc.) in die Kapillare destillieren. Das Quecksilber sammelt sich in der Regel hinter dem Wasser und vor den anderen fremden Substanzen in feinen Tröpfchen an, die mit einer Lupe erkannt werden können. Um das Quecksilber in Quecksilberjodid überzuführen, schneidet man die Kapillare ab, bringt in ihr rückwärtiges Ende einen kleinen Splitter Jod und erwärmt dieses so, dass sein Dampf in die geneigte Kapillare aufsteigen und in alle Teile derselben gelangen kann. Kondensiertes Jod, welches die Erkennung des Quecksilberjodids erschweren würde, spült man vorsichtig mit etwas Äther aus der Kapillare. Das Jodid erscheint dann unter der Lupe in kleinen Krystallen; meist entsteht zunächst das gelbe Jodid (rhombische Tafeln), welches sich seiner blassen Farbe wegen nur schwer erkennen lässt; das-

[1]) L. Böhm, Zeitschr. f. physiol. Ch. **15**. 9. 1891.

[2]) Schillberg, Jahresber. f. Tierch. 1886. 222.

selbe geht aber beim Liegen der Kapillare früher oder später in das rote (Oktaeder), schon mit blossem Auge wahrnehmbare über.

Nach diesem Verfahren lassen sich noch 0,2 mg Quecksilber in 200—300 ccm sicher nachweisen.

Fr. Müller sowie Alt[1]) erhitzen das Metall in einem weiten Rohre. Nach Müller soll es lang (30 cm) und ganz trocken sein. Der durch Einblasen von Joddampf (aus einem Splitter in einem Glasrohr erhitzten Jod) erzeugte rotgelbe Beschlag lässt sich durch vorsichtige drehende Bewegung des Rohrs über einer Flamme zu einem scharf begrenzten Ringe zusammendrängen, der dann leicht zu erkennen ist. Dabei stören die teerartigen Destillationsprodukte weniger als bei der Kapillare.

Nach Jolles[2]) werden 100—150 ccm Harn mit 5—10 ccm conzentrierter Salzsäure versetzt, erwärmt, hierauf portionsweise chlorsaures Kali bis zur Gesamtmenge von ca. 1,5—2 g hinzugefügt, und die Flüssigkeit so lange im schwachen Kochen erhalten, bis kein Chlorgeruch mehr wahrnehmbar ist. Hierauf wird das Gefäß mit heißem destilliertem Wasser bis zum ursprünglichen Volumen aufgefüllt, und dann das galvanisch vergoldete Platin-Wellblech (resp. vergoldetes Platinblech) vermittels eines Platindrahtes, der durch zwei in der Platte angebrachte Ösen durchgezogen ist, eingesenkt, das Gefäß auf dem Drahtnetze mäßig erwärmt, 30 ccm Zinnchlorürlösung[3]) zugesetzt und das Erwärmen durch eine Viertelstunde fortgesetzt. Hierauf wird das Platinblech herausgenommen, zuerst unter der Wasserleitung, dann mit destilliertem Wasser gut abgespült und dann über ein entsprechend großes Uhrglas oder noch besser über eine möglichst flache, mit Ausguß versehene Schale gehalten, mit warmer verdünnter Salpetersäure abgespritzt, in die Salpetersäure gelegt, so daß sie allseitig von dieser bespült ist und eventuell noch einige Minuten auf dem Wasserbade erwärmt. Nunmehr wird das Blech mit einer geringen Menge destillierten Wassers abgespritzt, die salpetersaure Lösung für sich weiter auf dem Wasserbade eingedampft auf ein Volumen von 2—3 ccm. Diese Flüssigkeit wird in ein Reagensrohr übergespült und entweder mit dem gleichen Volumen einer Zinnchlorürlösung oder besser mit 2—3 ccm frisch hergestellten Schwefelwasserstoffwassers versetzt. Im ersteren Falle entsteht eine deutliche Trübung bis zu 0,00016 g Hg für 100 ccm Harn im letzteren eine deutlich wahrnehmbare Braungelbfärbung bis zu 0,000066 Hg für 100 ccm Harn[4]).

Merget sowie Brugnatelli[5]) bedienen sich eigener Methoden zur Erkennung des Quecksilbers. Nach Merget soll man den Kupferdraht, auf welchem sich das Quecksilber niedergeschlagen hat, sanft gegen Papier drücken, das mit ammoniakalischer Silberlösung getränkt und im Dunklen getrocknet worden war; bei Gegenwart von Quecksilber entstehen auf dem Papier dunkle Flecke. — Brugnatelli bringt das amalgamierte Kupfer in eine Schale, daneben auf einem Scherben einen Tropfen 1 %iger Goldchloridlösung und erwärmt die bedeckte Schale auf dem Wasserbade; auf dem Scherben erscheinen violettbraune oder rosenrote Flecke, bei Gegenwart von viel Quecksilber auch glänzendes Gold.

Eine besondere Fehlerquelle liegt noch in der Flüchtigkeit der Quecksilberverbindungen. E. Salkowski[6]) hat den Beweis erbracht, dass man den Harn eindampfen darf, wenn man mit HCl ansäuert und ein Eintrocknen vermeidet.

---

[1]) Alt, Deutsche med. Wochenschr. 1886. 642.

[2]) Zeitschr. f. anal. Chemie 39. 230.

[3]) 40 g Zinn werden in konzentrierter Salzsäure unter Erwärmen gelöst und die verdampfte Säure solange ergänzt, bis sämtliches Zinn gelöst ist, alsdann wird die Lösung mit destilliertem Wasser verdünnt, filtriert und auf 300 ccm aufgefüllt.

[4]) Vgl. auch M. Oppenheim, Zeitschr. f. anal. Chemie **42**. 431. 1903.

[5]) Merget, Journ. de pharm. et de chimie [5]. **19**. 444; Chem. Zentralbl. 1889. **2**. 62. — E. Brugnatelli, La Riforma med. 1889. 825; Jahresb. f. Tierch. 1889. 217.

[6]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **72**. 387; **73**. 401.

Digitized by Google

Je 500 ccm Harn werden mit 2 ccm 25 %iger HCl bis zur beginnenden Ausscheidung von Salzen eingedampft, mit HCl und $HClO_3$ oxydiert, mit Alkohol extrahiert und das alkoholische Extrakt filtriert und eingedampft, mit 40 ccm absolutem Alkohol aufgenommen und 60 ccm Äther hinzugefügt. Der Alkohol-Äther-Auszug wird nach kurzem Stehen abfiltriert, eingedampft, mit 10 ccm Wasser aufgenommen und nach starkem Schütteln filtriert. Aus der so entstandenen Endlösung lässt sich das Hg in besonders bequemer Weise dadurch abscheiden, dass man in die Lösung Kupferblechstreifen legt und wenigstens 1½ Stunden darin belässt. Die abgespülten, mit Alkohol und Äther getrockneten Blechstreifen erhitzt man in einem Reagenzglas, schüttelt nach dem Erkalten die Bleche heraus, führt ein Körnchen Jod ein, erhitzt gelinde und entfernt das überschüssige Jod durch Erwärmen mit Lufteinblasen. Bisweilen muss das Reagenzglas einige Stunden liegen bleiben, bis sich der Quecksilberjodidbeschlag bildet. In einem Harn, der 0,25 mg $HgCl_2$ in 500 ccm enthielt, war der Nachweis noch deutlich.

Nach F. Glaser und A. Isenburg[1]) kann man das Quecksilber aus dem Harn auch mit Tonerde ausfällen, indem man zu 250 cc Harn 5 g reines Aluminiumsulfat zufügt, in der Wärme mit Ammoniak fällt und den abgesaugten Niederschlag auf siedendem Wasserbade mit konz. Salzsäure in Gegenwart einer Kupferspirale zersetzt und dann den üblichen Nachweis als Jodid führt.

D. Bestimmung.

1. Nach Winternitz[2]).

Der mit 0,1 Volumen Salzsäure versetzte und nach 1—2 Tagen filtrierte Harn (vom Menschen) strömt an Rollen von engmaschigem Kupferdrahtnetz aus schwachem Draht, die sich in 6 mm weiten Glasröhren befinden (Fig. 44,) in aufsteigender Richtung mit einer Geschwindigkeit von 50 Tropfen in der Minute vorüber. Eine Länge der Rollen von 30 cm genügt für die Aufnahme des Quecksilbers aus 1 l Harn. Man lässt den Harn zweimal hintereinander durch die Glasröhren fliessen. Die Netzrollen werden erst mit Wasser säurefrei, dann mit Alkohol und mit Äther gewaschen und in einem Luftstrom getrocknet. Darauf werden sie wie das Metall bei dem qualitativen Versuch ausgeglüht und das entweichende Quecksilber in einer Kapillare gesammelt. Zwischen den Netzrollen und der Kapillare befindet sich eine Schicht körniges Kupferoxyd zur Zerstörung flüchtiger organischer Substanz und eine Silberspirale zur Aufnahme sich etwa entwickelnden Jods. Die Kapillare ist am äussersten Ende, um das Entweichen von Quecksilberdampf zu verhindern, eine kurze Strecke weit mit einem Pfropf von echtem Blattgold lose verschlossen. Das Bajonettrohr, in welchem das Glühen (im Verbrennungsofen) vorgenommen wird, wird kalt ¼ Stunde mit trockener Kohlensäure gewaschen, dann bringt man erst das Kupferoxyd und das Silber zum Glühen und erhitzt darauf das Drahtnetz von rückwärts nach der Kapillare zu in einem schwachen Kohlensäurestrom (40 Blasen in der Minute) ½—¾ Stunde. Die Kapillare wird zuletzt abgeschnitten, in einem Strom trockener Luft bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, gewogen und in einem Strom trockener Kohlensäure geglüht und wieder gewogen. Die Gewichtsdifferenz ergibt die Menge des Quecksilbers. Die Resultate sind sehr genau. — Hundeharn muss nach Böhm vor dem Überleiten über das Drahtnetz mit chlorsaurem Kali und Salzsäure behandelt werden.

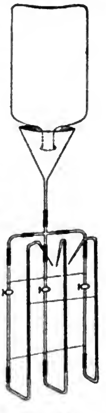


Fig. 44.

[1]) F. Glaser und A. Isenburg, Chemiker-Zeitung 33. 1258. 1909.
[2]) R. Winternitz, Arch. f. exp. Path. 25. 229. 1889.

2. Nach Jolles.

Jolles hat sein oben angegebenes Verfahren zum Nachweis auch für die quantitative Bestimmung nutzbar zu machen gesucht, indem er die Gelbfärbungen, die durch Schwefelwasserstoffwasser entstehen, kolorimetrisch verglich mit solchen bei Lösungen von bekanntem Gehalt. Das Verfahren ist aber dadurch kompliziert, daß man erst durch einen Vorversuch feststellen muß, bei welcher Harnmenge einmaliges Einsenken genügt.

3. Nach Ludwig und Zillner[1]).

Der Harn wurde bei gelinder Wärme mit Salzsäure und mit Zinkstaub versetzt und unter wiederholtem Rühren einige Stunden stehen gelassen. Der Zinkstaub wird dann durch Dekantieren erst mit Wasser, dann mit sehr schwacher Natronlauge und zuletzt wieder mit Wasser gewaschen, auf einem mit Glaswolle verstopften Trichter gesammelt, durch Übergiessen mit Alkohol vom Wasser befreit und in einem Luftstrom getrocknet. Dann wird das Quecksilber aus dem Amalgam abdestilliert. Dazu wird ein Verbrennungsrohr an dem einen Ende zu einem U-Rohr von geringem Durchmesser ausgezogen. Dem U-Rohr zunächst kommt dann ein Asbestpfropf, dann eine Schicht frischgebrannter Kalk in hanfkorngrossen Stücken, eine Schicht körniges Kupferoxyd, zuletzt der Zinkstaub. Zwischen jeder Schicht und am Ende befindet sich ein Asbestpfropf. Das Rohr wird in einen Verbrennungsofen so gelegt, dass das U-Rohr herausragt; es kann durch kaltes Wasser gekühlt werden. Man erhitzt in einem langsamen Strom trockener Luft den Kalk und das Kupferoxyd zum Glühen, darauf den Zinkstaub, diesen aber nur schwach. Nach einer Stunde hat sich alles Quecksilber und überdestilliertes Wasser im U-Rohr angesammelt. Das U-Rohr wird abgeschnitten, durch einen Luftstrom vom Wasser befreit und gewogen. Man treibt dann aus dem erhitzten Rohr das Quecksilber mittels eines Blasebalges aus und wägt das Rohr nach dem Erkalten wieder.

4. Nach Schumacher II und W. Jung[2]).

a) Gravimetrisches Verfahren.

1 l Harn wird in einem ungefähr 2 l fassenden Kaliglaskolben auf dem Dampfbad oder auf dem Drahtnetz unter Zusatz von 15 g Kaliumchlorat und 100 ccm konzentrierter Salzsäure sofort bis zum Kochen erhitzt, dann unter der Wasserleitung gekühlt und, wenn die Temperatur von 40—50° erreicht ist, mit 50—100 ccm klarer Zinnchlorürlösung versetzt, so daß diese im Überschuß ist (Probe mit Sublimatlösung). Nach 5 Minuten wird durch einen Trichter mit dichtem Asbestfilter abgesaugt, mit etwas Wasser nachgewaschen und der Asbest mit dem aufsitzenden Quecksilber und der geringen Menge organischer Substanz in einen etwa 1/4 l fassenden Kolben unter Nachspülen des Trichters mit etwas Kalilauge gebracht. Man läßt die Kalilauge einige Minuten lösend einwirken, setzt dann einige Körnchen Kaliumchlorat zu, macht mit Salzsäure sauer und erwärmt auf dem Drahtnetz, bis Chlor weggeht. Dann wird an der Saugpumpe in einen starkwandigen Rundkolben abgesaugt und die noch warme, klare Lösung mit 10—20 ccm Zinnchlorürlösung versetzt. Das ausgeschiedene Quecksilber wird durch ein mit Goldasbest versehenes Kaliglasröhrchen (s. o.) abgesaugt, zuerst mit verdünnter Salzsäure, dann mit Wasser, je dreimal mit Alkohol und Äther nachgewaschen und im trockenen Luftstrom unter sehr schwachem Erwärmen gut getrocknet. Nach dem Wägen des Röhrchens wird wieder im trockenen Luftstrom stark geglüht und gewogen, die Differenz zwischen den beiden Wägungen gibt die vorhandene Quecksilbermenge an.

---

[1]) E. Zillner, Wien. klin. Wochenschr. 45. 1889. 28.—32. 1890; Zeitschr. f. anal. Ch. **30**. 258.

[2]) Zeitschr. f. anal. Ch. **41**. 482.

Digitized by Google

b) Colorimetrisches Verfahren.

Im allgemeinen werden 500 ccm Harn in Arbeit genommen. Bekommt man später mit Schwefelwasserstoff keine oder fast keine Färbung, so ist kein Quecksilber oder weniger als 8,2 dmg $HgCl_2$ = 6,1 dmg Hg im Liter Urin enthalten. Man nimmt in diesem Falle dann 1 Liter Harn in Arbeit oder dampft ein noch grösseres Quantum auf dem Wasserbad, wenn nötig unter Zusatz einiger Gramm Chlornatrium, entsprechend ein. Zu den 500 ccm Harn setzt man 50 ccm konzentrierte Salzsäure und etwa 5 g Kaliumchlorat und erhitzt in einem Erlenmeyerkolben von ca. 1 Liter Inhalt, bis die Flüssigkeit kocht. Der Harn wird dann flüssiger und durch das Chlor hellgelbgrün gefärbt. Man lässt auf etwa 80⁰ abkühlen und setzt ohne Verzug zu der heissen Flüssigkeit ca. 12 g Zincum raspatum (von E. Merck chemisch rein und vorher geprüft). Wenn die erste stürmische Einwirkung vorüber ist, setzt man noch weitere 3 g Zincum raspatum zu und sieht nun bald die helle Farbe des Urins wieder dunkler werden und sich der ursprünglichen wieder nähern. Man lässt nun, nötigenfalls unter zeitweiligem Umschütteln, zwei Stunden stehen. Der sich reichlich entwickelnde Wasserstoff hält die Flüssigkeit so in Bewegung, dass alle Teile derselben mit dem am Boden liegenden oder oft auch durch den Wasserstoff zum Teil auf die Oberfläche getragenen Zink in Berührung kommen, das auf diese Weise rasch alles Quecksilber aufnimmt, so dass sogar das Umschütteln nicht einmal unbedingt nötig ist. Nach 2 Stunden (wenn es nicht auf 2—4 dmg Hg ankommt, schon nach $^1/_2$—1 Stunde) giesst man die überstehende Flüssigkeit ab. Befinden sich noch Zinkteilchen an der Oberfläche, so schüttelt man vor dem Abgiessen um, wodurch dieselben von dem anhaftenden Wasserstoff befreit werden und sich auf den Boden des Kolbens absetzen. Man wäscht zweimal durch Dekantieren mit Leitungswasser aus, setzt dann etwas verdünnte Kalilauge zu, lässt damit einige Minuten stehen, verdünnt mit Wasser, giesst ab und wäscht noch zweimal mit Wasser nach. Das zurückbleibende Zinkamalgam mit dem überschüssigen Zink übergiesst man nun mit etwa 50 ccm verdünnter Salzsäure, setzt etwas Kaliumchlorat zu, achtet darauf, dass die entstehende Reaktion nicht zu heftig wird, und überlässt nun den Kolben, unter den man eine ganz kleine Flamme stellen kann, unter einem gut ziehenden Abzug sich selbst, bis alles gelöst ist. Von Zeit zu Zeit kann man etwas Kaliumchlorat zufügen, um sicher immer Chlor im Überschuss zu haben. Man bewirkt so eine raschere Lösung und sorgt dafür, dass sich kein metallisches Quecksilber verflüchtigen kann. Zum Schluss erhitzt man stärker, setzt einige Siedesteinchen aus porösem Ton zu, um das Chlor

Digitized by Google

besser wegzutreiben, kocht auf und überzeugt sich durch Zusatz von ein wenig Salzsäure, dass alles Kaliumchlorat zerstört ist. Man lässt wieder auf etwa 70—80° abkühlen, setzt dann etwa 5 ccm Alkohol zu, kocht damit wieder auf, kühlt unter der Wasserleitung ab und füllt die entfärbte Lösung in ein 100 ccm Kölbchen ein. Man setzt Wasser zu, dann einige Kubikzentimeter Schwefelwasserstoffwasser bis zur Marke, schüttelt um und bekommt hier bei Anwesenheit von Quecksilber eine deutlich gelbe bis gelbbraune Färbung. Sehr geringe Färbungen werden am besten sichtbar, wenn man das Kölbchen auf ein Stück weisses Papier stellt. Zur quantitativen Bestimmung füllt man 10 ccm der Lösung in eine Colorimeterröhre und vergleicht die Intensität mit entsprechenden, frisch bereiteten Sublimatvergleichslösungen, multipliziert (bei Anwendung von 500 ccm Harn) die gefundene Zahl mit 20 und hat so den Gesamtgehalt an Quecksilber in 1 Liter der vorliegenden Harnprobe gefunden.

Statt der Sublimatvergleichslösungen kann man auch eine Mischung der drei Farbstoffe Janusschwarz, Janusbraun, Janusgelb benutzen, die man in gleichen Mengen mischt, mit Wasser verdünnt und gegen Sublimatlösung von bestimmtem Gehalte, die man mit Schwefelwasserstoffwasser versetzt, colorimetrisch einsetzt.

5. Nach Ernst Jäneke[1]).

250 ccm Harn werden mit 10 ccm Salzsäure und 2 g chlorsaurem Kali einige Stunden auf dem Wasserbade erhitzt, dann bis zum nächsten Tage stehen gelassen und in die Lösung ein dicker, 50 cm langer, zu einer steilen Spirale aufgewundener Kupferdraht gebracht, so dass dieser von der Lösung bedeckt ist; der Draht ist vorher ausgeglüht und durch Eintauchen in Salpetersäure von Oxyd befreit. Die Lösung erwärmt man einige Stunden auf dem Wasserbade, bis sie schwach grünlich wird, man holt dann die Spirale heraus, spült sie mit heissem Wasser ab, trocknet an der Luft und schiebt sie in ein trockenes Reagenzrohr, welches man an dem offenen Ende noch oberhalb der Spirale, unter Vermeidung stärkerer Erwärmung, zu einer 1—2 mm starken Kapillare auszieht. Unten an das Reagenzrohr schmilzt man einen kleinen Glasstab an und erhitzt die Spirale stark vor dem Gebläse, bis sie in das Glas einschmilzt und das an dem Kupfer befindliche Quecksilber in die Kapillare überdestilliert, dann zieht man das Glas von der Kapillare ab, taucht die Kapillare in ein Reagenzglas, welches 5 ccm eines Gemisches von 25 ccm verdünnter Salpetersäure von 1,32 spezifischem Gewicht und 25 ccm verdünnter Schwefelsäure (1,1 spezifisches Gewicht) auf ein Liter Wasser enthält. Die zersprungene Kapillare zerkleinert man mit einem Glasstab, erwärmt das Reagenzglas auf dem Wasserbad, wobei sich alles Quecksilber löst. Nun füllt man die Flüssigkeit durch Zerstossen des Bodens des Reagenzglases mit einem spitzen Glasstab in ein kleines 10—15 ccm fassendes Wägeglas und spült mit 5 %iger Kaliumsulfatlösung auf etwa 10 ccm nach. Das kleine Wägeglas wird als ein elektrolytischer Trog benutzt, die Kathode bildet ein Golddraht, derselbe wiegt ca. 25 mg und hat eine Länge von 18—20 cm und eine Dicke von 0,1 mm. Er wird vierfach zusammengelegt und eine kleine Öse gebildet, mittels welcher er an einem Platindraht angehängt wird. Dieser ist mit dem negativen Pol einer Batterie von zwei Akkumulatoren verbunden, die Anode bildet ein anderer Platindraht; um die Berührung der Elektroden während der Elektrolyse unmöglich zu machen, hat

[1]) E. Jäncke, Zeitschr. f. anal. Ch. **43**. 547.

Digitized by Google

man den Anodendraht um ein kleines, an beiden Seiten offenes Glasröhrchen gewickelt, die Kathode befindet sich während der Elektrolyse innerhalb des Röhrchens. Die Elektrolyse wird 24 Stunden in Gang gelassen, der Golddraht wird vorher in einem kleinen Porzellantiegel ausgeglüht und auf einer Nernstwage gewogen, indem man den Draht an Stelle des kleinen Schälchens an den Wagebalken anhängt. Nach der Elektrolyse wird der Golddraht mit Wasser abgespült, auf Filtrierpapier im Exsiccator getrocknet und auf der Nernstwage gewogen. Eventuell kann man den Goldrahmen auch auf einer genauen analytischen Wage wägen. Man kann noch 0,01 mg in 2 l nachweisen. Das Quecksilber kann noch vom Golddraht abdestilliert und durch Jod als Jodquecksilber sichtbar gemacht werden.

6. Nach P. E. Raaschou und E. Hintz[1]).

Das Verfahren beruht auf dem Prinzip der Konzentrationsfällung, indem durch Zusatz von Kupfersulfat ein größerer Sulfidniederschlag erzeugt wird, der den geringen Quecksilbersulfidniederschlag mit zur Ausscheidung bringt.

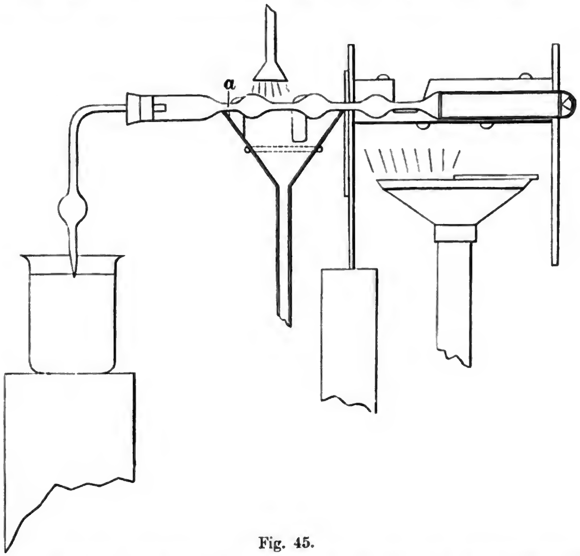


Fig. 45.

250 ccm Harn werden mit 1,5—2 g Kaliumchlorat in 20 ccm konzentrierter Salzsäure eine halbe Stunde lang gekocht und nach dem Abkühlen filtriert. Ein ali-

[1]) Zeitschr. f. anal. Chem. **49**. 172. 1910.

Digitized by Google

quoter Teil des Filtrats wird mit 0,05 g—0,1 g Kupfersulfat versetzt und 40 Minuten kalt mit Schwefelwasserstoff gefällt. Man lässt den Niederschlag absitzen und filtriert durch ein Asbestfilter in einem Porzellansiebtrichter, wäscht viermal mit Schwefelwasserstoffwasser, je dreimal mit Alkohol und Äther aus und saugt mit der Saugpumpe lufttrocken. Während des Auswaschens hält man den Trichter bedeckt. Zur Destillation des Sulfidniederschlags benutzt man Doppelröhrchen und zwar ein 5 ccm fassendes Wägerohr, das in ein 16 cm langes Präparatrohr hineinpasst. In das kleine Rohr werden ca. 0,15 g Magnesit gebracht und etwas Asbest fest gestopft. Hierauf kommt eine ca. 8 mm hohe Schicht von gepulvertem Bleichromat. Der ganze Asbestkuchen wird in das kleine Rohr gebracht, der Trichter mit etwas Asbest sauber gerieben und dieser gleichfalls in das Röhrchen gegeben, nun drückt man das ganze im Röhrchen zusammen. Dieses wird mit Bleichromat bis ca. 1,4 cm vor der Öffnung gefüllt, etwas Asbest und eine etwa 1 cm hohe Schicht getrockneter Soda und zum Schluss wieder etwas Asbest darauf gegeben. In das grosse Rohr tut man zuerst einige Milligramm Kreide und dann das so gefüllte kleine Rohr.

Mit Hilfe des abgebildeten Apparats (Fig. 45) wird sodann die Destillation durchgeführt. Beim Beginn der Destillation wird die Hälfte der Flamme mit einer Asbestplatte bedeckt, so dass die erste Kugel und das reine Bleichromat ca. 5 Minuten zuerst erhitzt werden, dann werden nur die hinteren 2 cm vom Aufsatz bedeckt und zuletzt die Platte ganz abgenommen und die Substanz so lange erwärmt, bis einige Zeit keine Gasentwickelung zu sehen ist. Um die Quecksilberdämpfe in die Kugelkapillare hineinzutreiben, wird wieder der Aufsatz teilweise bedeckt, die volle Erhitzung behält man endlich so lange bei, bis der Magnesit ca. 3—4 ccm Kohlensäure entwickelt hat, dann wird mit einer Stichflamme die Kapillare bei a zugeschmolzen, mit Salzsäure gefüllt, und die unterste Kugel vorsichtig in 80—90° heisses Wasser getaucht und so bewegt, dass das grauschwarze Pulver sich möglichst in einer Kugel sammelt. Dann bricht man die Kapillare so durch, dass eine gerade Bruchfläche entsteht, das abgebrochene Rohrende wird nun umgewendet, so dass die Öffnung in einem Tropfen Wasser zu stehen kommt, welcher in ein Uhr- oder Objektglas mit Vertiefung getropft worden ist. Die Quecksilberkugel wird mit Filtrierpapier getrocknet, und der horizontale Hauptdurchmesser unter dem Mikroskop mit dem Messokular gemessen. Dieser Wert, multipliziert mit dem Vergrösserungsfaktor, gibt den Durchmesser d in Tausendstel Millimeter ausgedrückt an. Aus folgender Formel ergibt sich dann das berechnete Gewicht:

$$P = \frac{1}{6} \,.\, 13{,}551 \,.\, \pi \,.\, \left(\frac{d}{1000}\right)^3 \text{mg Hg}$$

7. Nach C. Siebert[1]).

In einer sorgfältig gereinigten Abdampfschale werden der abgemessenen Menge Harn 15 % des Volumens rauchende Salpetersäure zugesetzt. Unter behutsamem Umrühren lässt man, zunächst ohne zu erwärmen, die zum Teil etwas stürmische Reaktion sich vollziehen. Hierauf erwärmt man das Gemisch, bei kleineren Mengen auf dem Wasserbade, bei grösseren über freier Flamme, bis es auf ein Drittel eingeengt ist. Sorgfältig ist durch öfteres Umrühren zu verhüten, dass sich nicht an der Wand der Schale salpetersaure Salze ansetzen, die bei trockenem Erhitzen derselben zu Quecksilberverlusten führen könnten. Nach dem Einengen giesst man die Flüssigkeit unter wiederholtem Nachspülen der Abdampfschale in einen langhalsigen, etwa 1—1,5 l fassenden Kolben aus Jenaer Glas, dessen Hals man zweckmässig mit dicker Asbestpappe umgibt, engt dann die Flüssigkeit über freier Flamme noch weiter, bis auf 100 ccm ein. In den Kolben, der schräg in ein Stativ gespannt ist, lässt man dann aus einem Schütteltrichter unter vorsichtigem Erhitzen von Zeit zu Zeit etwas von dem Gemisch aus $^1/_3$ rauchender Salpetersäure und $^2/_3$ kon-

[1]) Biochem. Zeitschr. **25**. 328. 1910.

Digitized by Google

zentrierter Schwefelsäure zufliessen. Der Zusatz der Säuremischung erfolgt so lange, bis auch bei weiterem Erhitzen die Flüssigkeit farblos bleibt und sich nicht mehr braun färbt. Man erhitzt dann die Mischung noch weiter über freier Flamme, um die überschüssige Schwefel- und Salpetersäure zu verjagen. Als Brenner benutzt man beim Erhitzen am besten einen mittleren Teclubrenner mit Pilzaufsatz. Durchaus zu vermeiden ist es, dass die Flamme in direkte Berührung mit der Glaswand kommt, da sonst leicht durch Überhitzen der Ränder Quecksilberverluste eintreten können. Nachdem die Schwefelsäure zum grössten Teil abgeraucht ist, wird der Rückstand unter Abkühlen vorsichtig mit destillierten Wasser verdünnt und noch eine Zeitlang gekocht, um die letzten Reste der Salpeter- und salpetrigen Säure zu verjagen. Jetzt wird vorsichtig unter Wasserkühlung starke Ammoniaklösung (Ammon. caustic. triplex) hinzugefügt, so lange, bis ein Tropfen des Gemisches blaues Lackmoidpapier nicht mehr rötet. Hierauf säuert man die Lösung wieder vorsichtig mit konzentrierter Salzsäure an (Rötung von blauem Lackmoidpapier). Um die Silicate, die durch das Kochen mit den starken Säuren aus den benutzten Gläsern in Freiheit gesetzt wurden und sich in Ammoniak lösen, zur vollständigen Ausscheidung zu bringen, hält man die salzsaure Lösung noch etwa 20 Minuten im Kochen und lässt sie dann 24 Stunden stehen. Nach dieser Zeit wird die Flüssigkeit in einem Erlenmeyerkolben filtriert und das Filter vorsichtig mit heissem Wasser ausgewaschen.

Durch das mässig angewärmte Filtrat leitet man dann etwa 20 Minuten einen Schwefelwasserstoffstrom. Die klare Flüssigkeit färbt sich nun zunächst gelb, dann fällt das Schwefelquecksilber in feinen Flocken aus. Ist sehr wenig Quecksilber in der Flüssigkeit, so kommt es gar nicht zur Ausscheidung von Schwefelquecksilber, sondern die kleine Menge bleibt kolloidal gelöst, was sich durch die Gelbfärbung zu erkennen gibt. In jedem Fall wird die Flüssigkeit nach Einleiten des Schwefelwasserstoffs weiter erwärmt, wobei auch das kolloidale Schwefelquecksilber zum Ausfallen gebracht wird, denn die Färbung der Lösung verschwindet. Man setzt das Erwärmen bis zur vollständigen Vertreibung des Schwefelwasserstoffes fort, d. h. bis ein über den Kolben gehaltenes, angefeuchtetes Bleiacetatpapier sich nicht mehr bräunt.

Nachdem man den Niederschlag gut hat absitzen lassen, filtriert man die Flüssigkeit mittels einer Saugpumpe durch einen gewogenen Goochtiegel, auf dessen Boden sich eine Schicht gut gereinigten und gut gezupften Asbestes befindet. Man wäscht mit kaltem, dann mit heissem destilliertem Wasser und schliesslich mit 96 %igem Alkohol gut nach.

Der in dem Goochtiegel befindliche Niederschlag ist mehr oder minder mit ausgefallenem Schwefel verunreinigt. Durch Extraktion des Niederschlages mit Schwefelkohlenstoff entfernt man denselben. Nach beendeter Extraktion wird der überschüssige Schwefelkohlenstoff mit der Wasserstrahlpumpe abgesaugt und der Tiegel mit Alkohol und dann mit Äther nachgewaschen. Der Tiegel wird dann bei einer Temperatur von 100—110° getrocknet und nach völligem Erkalten im Exsiccator gewogen. Die Fehler sollen sich „innerhalb der schon normalerweise vorhandenen“ Wägefehler bewegen.

8. Nach P. Farup[1]).

Die Tagesmenge oder ein aliquoter Teil derselben, z. B. 1 Liter Harn, wird nach Zusatz von 3—4 ccm konzentrierter Salzsäure in einem geräumigen und starkwandigen, mit kurzem aufsteigendem Kühler oder bequemer mit einem 50 cm langen Glasrohr versehenen Kolben auf dem

[1]) P. Farup, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **44**. 272. 1900. — O. Ratner, Arch. f. Derm. u. Syph. **91**. 271. 1908. — Schuhmacher u. W. L. Jung, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **42**. 138. — W. Becker, Pharm. Ztg. **54**. 987. 1910.

Digitized by Google

Wasserbade auf 70—80° erwärmt, alsdann etwa 6 g Zinkstaub zugesetzt und 2 Minuten tüchtig geschüttelt. Nach Erkalten und Absetzen wird die leicht getrübte Flüssigkeit durch eine nicht zu dünne, vorher an die Filtrierscheibe fest angesaugte Schicht von Seidenasbest mittels der Wasserstrahlpumpe filtriert. Die untere Fläche der Asbestschicht darf nach beendetem Filtrieren nicht durch mitgesaugtes Metallpulver grau gefärbt, sondern muss vollständig weiss sein. Der Asbest mit anhaftendem Zinkstaub wird jetzt wieder in den grossen Kolben, wo sich die Hauptmenge des Zinkpulvers befindet, quantitativ hineingebracht. Die an den Wänden des Trichters festhaftenden Metallteilchen werden mit dem Einführen von 80 ccm verdünnter Salzsäure (konzentrierte Säure und Wasser zu gleichen Teilen) nachgespült. Nach weiterem Zusatz von 3 g in Wasser gelöstem (!) chlorsaurem Kalium wird der wieder mit aufsteigendem Kühler versehene Kolben auf das Wasserbad bis zur vollständigen Lösung des Inhalts gebracht. Nach Erkalten wird die Lösung durch Hartfilter in einen kleinen, etwa 200 ccm fassenden Kolben filtriert, das durch Chlor grüngefärbte Filtrat auf 60° erwärmt und mit frisch bereiteter Zinnchlorürlösung (bereitet durch Kochen von überschüssigem Zinn mit konzentrierter Salzsäure und Filtrieren durch gehärtetes Filter) (15—20 ccm) im Überschuss oder bis zum völligen Verschwinden der grünen Farbe versetzt. Das Quecksilber fällt nun in feinen, die Flüssigkeit gräulich trübenden Kügelchen aus. Nach Erkalten auf etwa 40° filtriert man endlich durch das Filtrieramalgamierröhrchen, welches aus einem gewöhnlichen Soxlethschen Reduktionsrohr (für Zuckeranalyse) besteht und unten etwas Seidenasbest, dann eine 10 mm hohe Schicht Goldasbest enthält; letzterem noch körniges Gold beizumischen ist überflüssig, denn der weit grösste Teil des Quecksilbers wird sicherlich mechanisch, nicht durch die Amalgamierung festgehalten (s. u.). Nach beendeter Filtration — das Filtrat darf nicht die geringste Spur einer Trübung zeigen — wird je dreimal mit verdünnter Salzsäure (1—5), Wasser (bis zum Verschwinden der Cl-Reaktion), Alkohol und Äther gewaschen, das Saugen nach 10 Minuten fortgesetzt, und zuletzt während 25—30 Minuten trockene Luft bis zur Gewichtskonstanz durch das Rohr geleitet. Es geschieht diese Durchleitung in der Richtung gegen den verjüngten Teil des Röhrchens. Bei der einzelnen Analyse wird von dem Goldasbest nur eine Schicht von 1—2 mm grau gefärbt. Eventuell mit dem Luftstrom verdampfendes Quecksilber muss demnach eine dicke Schicht noch unamalgamierten Goldasbest durchstreichen, welche es festhält, so dass Verluste während des Trocknens nicht zu befürchten sind. Es ist ratsam — bei dieser wie bei den anderen Methoden — für die quantitative Bestimmung den Glühverlust und nicht die blosse Zunahme der Amalgamierröhrchen

Digitized by Google

bei der Filtration als das Massgebende anzusehen. Man vertreibt also das Quecksilber durch starkes Erhitzen im Luftstrom, wägt wieder: die Differenz entspricht dann der Quecksilbermenge.

Nach Olga Ratner muss der Asbest, damit er brauchbar wird, so lange mit konzentrierter Salzsäure ausgekocht werden, bis die zuletzt verwendete Salzsäure auf einem Uhrglas verdampft keinen Rückstand mehr hinterlässt. Den Goldasbest stellt man nach Schumacher und Jung dar (s. o.).

Wie Bürgi und seinen Schülern hat sich auch mir bei Kontrolluntersuchungen die Farupsche Methode gut bewährt.

Bezüglich weiterer Bestimmungsmethoden sei noch verwiesen auf: Eschbaum, Deutsche med. Wochenschr. 1900. Nr. 3. Malkes, Chem.-Ztg. **24**. 816. Hoehnel, Pharmaz. Zeitung 1900. 126. A. Archetti, Pharmaz. Zeitung **46**. 1. M. Lehmann, ebenda S. 209. Nez, ebenda S. 626. Vignou, Compt. rend. **116**. 584 und **128**. 613. K. Enoch, Zeitschr. f. öffentl. Chem. **13**. 307. W. Becker, Pharm. Ztg. **54**. 787. 1910. K. Stich, ebenda 833. K. Boening, Chem.-Ztg. **33**. 371. 1909. B. Bardach, ebenda 431.

2. Arsen[1]).

A. Vorkommen. Die Ausscheidung des Arsens verläuft nach innerlicher Darreichung ausserordentlich langsam (Severi, Almkvist u. Welander, Bloemendal, Cloetta). Die Ausscheidung entspricht nach Cloetta ungefähr 8—14% der Einfuhr; ein Teil des Arsens wird im Körper angehäuft, speziell in der Leber. Ein Teil des im Harn ausgeschiedenen Arsens geht nach Zusatz von Natriumcarbonat und Eindampfen in Alkohol über, namentlich nach längerer Darreichung von Arsen; nach Salkowski handelt es sich hierbei um organisch gebundenes Arsen, während das ionisierte Arsen sich im Niederschlag befindet. Ausserdem erscheint ein Teil des Arsens im Kot und in der Milch.

---

[1]) Literatur zu Arsen. P. Brouardel u. G. Pouchet, Ann. d'hygiène [3]. **14**. 73. 1885. — B. Gosio, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. **25**. Ref. 346. 1892. — A. Severi, Ann. di chim. e di Farm. **18**. 33. 1893. — D. Scherbatscheff, Vierteljahrsschr. f. ger. Med. [3]. **19**. 233. 1900. — Almkvist und E. Welander, Nord. med. Ark. 1900. Nr. 21. — P. Biginelli, Rendiconti della Accad. dei lincei Roma [5]. **9**. Serie 2. 1900. — R. Abel u. P. Bukenberg, Zeitschr. f. Hyg. **32**. 449. 1900. — A. Heffter, Ergebn. d. Physiol. **2**. I. 115. 1903. (Vorzügliche kritische Übersicht), — A. Heffter, Arch. intern. de pharmacodynamie **15**. 399. 1905. — G. Lockemann, Zeitschr f. angew. Chem. **18**. 416. 1905. Biochem. Ztschr. **35**, 478. 1910. — C. J. Bucura, Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Ther. **4**. 399. 1907. — M. Cloetta, Arch. f. exp. Pathol. und Pharm. **54**. 196. 1906. — F. P. Treadwell, Lehrb. d. analyt. Chem. **1**. 188. 1907. — H. Wefers-Bettink, Pharmac. Weekbl. **45**. 377. 1908. — E. Welander, Arch. f. Derm. u. Syph. **89**. 31. 1908. — E. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. **56**. 95. 1908. — W. A. Merkuriew. Wiener klin. Wochenschr. **25**. 588. 1912. — A. Heiduschka u. Th. Biechy, Apoth,-Ztg. **26**. 146. 1911.

Digitized by Google

Nach Merkuriew. Die Arsenausscheidung dauert bei intravenöser Injektion von Salvarsan 9—16 Tage, bei intramuskulärer Applikation etwa 25 Tage. Die Stärke und Dauer der Ausscheidung steht in keiner Beziehung zur angewandten Dosis. Bei Reinjektionen ist die Ausscheidung vermehrt und verlängert.

B. Eigenschaften:

1. Alle Arsenverbindungen werden in saurer Lösung durch nascierenden Wasserstoff zu Arsenwasserstoff reduziert. Z. B.

$$As_2O_3 + 6H_2 = 2AsH_3 + 3H_2O.$$

Leitet man den Arsenwasserstoff durch eine mit Wasserstoff gefüllte glühende Glasröhre, so zerfällt er in Wasserstoff und metallisches Arsen, welches sich in Form eines braunschwarzen Spiegels kurz hinter der Erhitzungsstelle an der Röhrenwandung ansetzt. Man kann so noch bis zu 0,00025 mg As mit Sicherheit nachweisen (Marsh sche Probe). Der Spiegel, erhitzt, verbrennt unter Entwicklung von Knoblauchgeruch zu As_2O_3, das sich an den kälteren Stellen der Röhre in diamantglänzenden Oktaedern ansetzt.

2. Schwefelwasserstoff erzeugt

a) in sauren Lösungen der Arsenite eine Fällung von gelbem flockigem Arsentrisulfid, löslich in Alkalien, Ammoniak und Schwefelalkalien.

$$2AsCl_3 + 3H_2S = As_2S_3 + 6HCl$$

Konzentrierte Salpetersäure oxydiert das Arsentrisulfid zu Arsensäure und Schwefelsäure.

b) in sauren Lösungen von Arseniaten zunächst eine Trübung, indem die Arsensäure unter Abscheidung von Schwefel allmählich zu arseniger Säure reduziert wird, dann Fällung von Arsentrisulfid:

$$H_3AsO_4 + H_2S = H_3AsO_3 + S + H_2O$$
$$2H_3AsO_3 + 3H_2S = As_2S_3 + 6H_2O.$$

3. Magnesiumchlorid bei Gegenwart von Ammoniak und Salmiak erzeugt

a) in Arsenitlösungen keine Fällung,

b) in Arseniatlösungen eine weisse krystallinische Fällung von Ammoniummagnesiumarseniat, in Ammoniak unlöslich.

$$NaH_2AsO_4 + MgCl_2 + NH_3 = (NH_4)MgAsO_4 + 2NaCl$$

Durch Glühen geht es in Magnesiumpyroarseniat über.

$$2(NH_4)MgAsO_4 = Mg_2As_2O_7 + 2NH_3 + H_2O.$$

Die Magnesiamixtur wird bereitet durch Lösen von 55 g Magnesiumchlorid, 70 g Ammoniak in 650 ccm Wasser und Auffüllen dieser Lösung mit Ammoniak (spez. Gewicht 0,96) auf 1 Liter.

Digitized by Google

4. Arsenverbindungen werden durch kolloidales Eisenhydroxyd gefällt.

5. Wird arsenige Säure in 10%iger Salzsäure mit Schwefelwasserstoffwasser versetzt und das gleiche Volumen Äther hinzugefügt, hierauf das Ganze kräftig durchgeschüttelt, so scheidet sich an der Grenzfläche beider Flüssigkeiten Schwefelarsen augenblicklich ab. Setzt man dem Äther noch Alkohol zu, so rollt sich das Schwefelarsen zusammen und schlägt sich in leicht kenntlichen Flocken nieder.

Hat man es mit Arsensäure zu tun, so setzt man statt Schwefelwasserstoffwasser Thioessigsäure und dann Äther zu. Während aber bei arseniger Säure der Niederschlag sich fast augenblicklich ausscheidet, muss man bei Arsensäure mindestens 20 Minuten warten.

6. Arsentrichlorid ist flüchtig, namentlich beim Erhitzen seiner gesättigten salzsauren Lösung.

7. Gewisse Schimmelpilze, z. B. Penicillium brevicaule (zu beziehen von Krals bakteriologischem Laboratorium in Prag) oder Burotium herbavorum, entwickeln aus Arsenverbindungen ein stark und charakteristisch riechendes Gas, vermutlich Diäthylarsin $(C_2H_5)_2AsH$.

C. Nachweis. Der Nachweis wird meist nach B. 1. geführt. Die verschiedenen Verfahren unterscheiden sich durch die Art der Zerstörung der organischen Substanz, die älteren Methoden erreichen diese nach Fresenius mit Kaliumchlorat und Salzsäure, die neueren, z. B. die von Salkowski und Lockemann, mit konzentrierten Säuren.

I. Zerstörung der organischen Substanz.

1. Nach Fresenius mit Kaliumchlorat und Salzsäure.

Der mit Soda alkalisch gemachte und eingedampfte Harn wird in einem mit Steigrohr versehenen Kolben mit 50 ccm konzentrierter Salzsäure auf dem Wasserbade erhitzt und langsam dazu aus einem Tropftrichter konzentrierte Kaliumchloratlösung zufliessen gelassen, bis die Masse hellgrau geworden ist. Nach dem Erkalten verdrängt man das überschüssige Chlor durch Kohlensäure, verdünnt mit Wasser, filtriert und sättigt das auf 50—70° erwärmte Filtrat mit Schwefelwasserstoff, filtriert nach 12 Stunden und wäscht den Niederschlag zuerst mit Schwefelwasserstoff und löst ihn dann mit heissem gelbem Schwefelammon, das mit Ammoniak verdünnt ist, und endlich mit verdünntem Ammoniak. Das Filtrat dampft man in einer Schale zur Trockne und behandelt den Rückstand so lange mit rauchender Salpetersäure, bis er nach dem Eindampfen nicht mehr braun erscheint. Der Rückstand wird zur Entfernung der Salpetersäure mit konzentrierter Schwefelsäure bis zum

Digitized by Google

Entweichen weisser Dämpfe erhitzt, dann mit Wasser verdünnt und wiederum mit soviel Wasser versetzt, dass die Lösung etwa 15% Schwefelsäure enthält.

2. Schmelzverfahren. Nach E. Salkowski[1]).

Der bei neutraler Reaktion eingedampfte Harn wird mit ca. 150 ccm Alkohol extrahiert, filtriert, der eingedunstete Alkoholauszug heiss mit 12—15 ccm Salpetersäure übergossen und eingedampft. Der neuerliche Rückstand wird unter Zusatz von Pottasche in Wasser gelöst und in einer Platinschale auf dem Wasserbad auf ein kleines Volumen eingedampft, mit 15 g Salpetermischung ($2\,KNO_3 : 1\,K_2CO_3$) geschmolzen. Das Filtrat der in Wasser gelösten Schmelze wird nach dem Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure gekocht, eingedampft, mit Alkohol gefällt, die alkoholische Lösung abfiltriert, eingedampft, der Rückstand mit Wasser in den Kjeldahl-Kolben gebracht, mit 8—10 ccm konz. Schwefelsäure eine Stunde erhitzt und nach dem Verdünnen mit Wasser die schwefelsaure Lösung in den Marshschen Apparat gebracht.

3. Säureverfahren. Nach E. Salkowski.

Man kann auch verfahren wie bei A. Neumanns Veraschung auf nassem Wege[2]), nur empfiehlt es sich, eventuell nicht den eingedampften Harn selbst zu oxydieren, sondern den Abdampfungsrückstand des Alkoholauszugs, ferner statt Salpetersäure von 1,4% solche von 1,48% anzuwenden und zwar zunächst nicht im Gemisch mit Schwefelsäure, sondern für sich allein, indem man 15 ccm oder mehr derselben portionsweise direkt in die noch heisse Schale giesst („Voroxydation"). 10 ccm Schwefelsäure werden erst nachträglich zugesetzt, nachdem die salpetersaure Lösung in den Kolben gebracht ist; dann wird nicht ein Gemisch der beiden Säuren zutropfen gelassen, sondern nur einigemal mit der Pipette je $^1/_2$ ccm Salpetersäure von 1,48% hinzugesetzt. — Die Erhitzung ist fortzusetzen (2 Stunden), bis die Flüssigkeit ganz klar ist. Bei der Bestimmung ist darauf zu achten, dass weder Salpetersäure und Nitrate noch Schwefelwasserstoff anwesend sind. Auch mir hat sich bei Nachuntersuchungen dieses Säureverfahren bewährt. Man vergleiche auch das folgende Verfahren von Lockemann.

4. Nach G. Lockemann.

G. Lockemann und M. Paucke[3]) haben die Adsorption von Arsenverbindungen durch Eisenhydroxyd (s. B. 4)

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chemie. **56.** 95.

[2]) F. Croner und P. Seligmann, Deutsche med. Wochenschr. **33.** 995. 1907.

[3]) Kolloid-Zeitschr. 8. 273.

Digitized by Google

untersucht und gefunden, dass Eisenhydroxyd beim Fällen am besten in ammoniakalischer Lösung in der Kälte und mit möglichst geringem Überschuss bis etwa 10 mg Arsen in 100 ccm quantitativ adsorbiert. Bei höherem Arsengehalt steigt die Adsorption mit wachsenden Eisenhydroxydmengen gesetzmässig bis zu einer gewissen Grenze und nimmt dann auch bei grosser Vermehrung des Hydroxyds nicht mehr erheblich zu; der in der Lösung verbleibende Arsenrest lässt sich nach dem Filtrieren durch wenig Eisenhydroxyd ausfällen. Hierauf hat G. Lockemann ein Verfahren aufgebaut für den Nachweis kleiner Arsenmengen im Harn[1]), bei dem nur geringe Säuremengen, dagegen grössere Mengen von Salzen, die sich verhältnismässig leicht gänzlich von Arsen befreien lassen, zur Verwendung kommen.

a) Reinigung und Prüfung der Chemikalien. Die für dieses Salpeterschmelzverfahren erforderlichen Säuren, Schwefelsäure und rauchende Salpetersäure, erweisen sich in den hier in Betracht kommenden Mengen (einige Kubikzentimeter), wenn man die reinsten Kahlbaumschen Präparate verwendet, meistens als arsenfrei. Die Schwefelsäure prüft man, indem man sie in etwa 20%iger Lösung in den Marshschen Apparat (s. u. S. 1435) bringt und zwar mindestens in solchen Mengen, wie sie für die einzelnen Untersuchungen zur Verwendung kommen. Die rauchende Salpetersäure ist natürlich ohne weiteres zur Prüfung im Marshschen Apparat nicht zu gebrauchen. Eine gemessene Menge (10—20 ccm) wird mit etwa 10%iger konzentrierter Schwefelsäure vermischt und in einer Porzellanschale auf dem Wasserbad (mit Porzellanringen) vorsichtig abgedampft. Die Erhitzung wird so lange fortgesetzt, bis eine Tüpfelprobe des Rückstandes mit Diphenylaminschwefelsäure (1 Teil Diphenylamin in 100 Teilen konzentrierter Schwefelsäure) keine Blaufärbung mehr ergibt. Bei diesem Verdunsten der Salpetersäure ist zwar das Entweichen sehr geringer Arsenmengen nicht ganz ausgeschlossen, doch bleibt der grössere Teil im Rückstand, und ausserdem herrschen hier dieselben Bedingungen wie bei dem Zerstörungsverfahren selbst, so dass das Prüfungsergebnis den tatsächlichen Verhältnissen entspricht. Der Abdampfrückstand (Schwefelsäure) wird, mit Wasser verdünnt, im Marshschen Apparat geprüft. Die Nitrate von Natrium und Kalium enthalten meistens Spuren von Arsen, die sich nach dem Eisenfällungsverfahren nachweisen lassen. In neuerer Zeit liefert allerdings die Firma Kahlbaum auch Präparate, die sich in den hier in Betracht kommenden Mengen als arsenfrei erweisen. Jedoch ist es immer ratsam oder bei genauen Versuchen notwendig, sich selbst von der Arsenfreiheit zu überzeugen, da auf irgend eine unkontrollierbare Weise geringe Verunreinigungen hineingeraten sein könnten. Die Reinigung der Nitrate, wie die anderer neutraler Salze von Arsen geschieht auf Grund der Fällung von Eisenhydroxyd in ihren abgekühlten Lösungen. Das Arsen wird auf diese Weise durch die Adsorptions-

[1]) Biochem. Zeitschr. 35. 478.

Digitized by Google

wirkung des Eisenhydroxyd aus der Lösung entfernt. Hierzu ist eine Eisenlösung und eine Ammoniaklösung von bestimmtem Gehalt nötig. Vom Eisenammoniakalaun ($FeNH_4(SO_4)_2 . 12H_2O$) werden 226 g (genau 225,6 g) mit destilliertem Wasser zu 1 l gelöst; 1 ccm dieser Lösung entspricht 50 mg $Fe(OH)_3$, oder 10 ccm entsprechen 0,5 g $Fe(OH)_3$. Nimmt man das reinste Kahlbaumsche Präparat, so ist in 20 ccm einer derartigen Lösung kein Arsen nachzuweisen. Die Ammoniaklösung wird in der Weise hergestellt, dass man eine 10%ige Lösung auf das 4 fache verdünnt, so dass man eine Lösung von zirka 2,5% NH_3 = 1,47 n erhält. Man prüft durch Titration mit Normalsäure (Lackmus oder Methylorange als Indikator); wenn 10 ccm Ammoniaklösung zirka 14,5 ccm (zwischen 14 und 15 ccm) 1-n-Säure verbrauchen, so ist die Lösung richtig eingestellt. Da nun die Ammoniaklösungen durchweg auch einen gewissen Arsengehalt haben, so ist es ratsam, entweder die ursprüngliche Ammoniaklösung zunächst längere Zeit mit frisch gefälltem, ausgewaschenem Eisenhydroxyd zu schütteln oder die Gebrauchslösung dauernd über einer gewissen Menge Eisenhydroxyd aufzubewahren, wobei die Flasche von Zeit zu Zeit umzuschütteln und die jedesmal zu verwendende Menge Ammoniaklösung zunächst zu filtrieren ist. Zur Prüfung der Ammoniaklösung verdampft man ein bestimmtes Volumen auf dem Wasserbade nicht ganz zur Trockne; der Rückstand wird mit etwas verdünnter Schwefelsäure aufgenommen und in den Marshschen Apparat gebracht. Diese Eisen- und Ammoniaklösungen werden auch für die Abscheidung des Arsens zum Nachweis und zu seiner Bestimmung benutzt.

Die Reinigung des Natrium- und Kaliumnitrats führt man nun in der Weise aus, dass man diese Salze in Wasser löst, zum Beispiel 500 g $NaNO_3$ in 650 ccm, 500 g KNO_3 in 3 l Wasser, zu den Lösungen je eine bestimmte Menge Eisenlösung zum Beispiel 25 ccm hinzufügt und sie unter Umrühren in Eis auf etwa 5^0 abkühlt. In der Kälte wird dann durch Zusatz des gleichen Volumens Ammoniaklösung das Eisenhydroxyd ausgefällt und nach kurzem Stehen durch ein Faltenfilter filtriert. Das Filter wird in gleicher Weise, aber nur mit 10 ccm Eisen- und Ammoniaklösung behandelt. Dieser zweite Eisenhydroxydniederschlag dient zur Prüfung, ob die Salpeterlösungen nunmehr arsenfrei sind. Er wird auf dem Filter mit kaltem Wasser ausgewaschen, bis das ablaufende Waschwasser mit Diphenylaminschwefelsäure bei der Tüpfelprobe auf Porzellan keine Blaufärbung mehr gibt. Das Eisenhydroxyd wird sodann in etwa 25 ccm heisser 20%iger Schwefelsäure gelöst, und diese Lösung wird nach dem Abkühlen im Marshschen Apparat geprüft. Sollte bei dieser Kontrolle noch Arsen gefunden werden, so müssten die Salpeterlösungen noch einmal mit einer entsprechenden Menge Eisen- und Ammoniaklösung behandelt werden, bis die letzte Kontrolle die Arsenfreiheit erweist. Die Fällung des Eisenhydroxyds kann man auch bei gewöhnlicher Temperatur ausführen, doch wird die Adsorptionswirkung durch die Eiskühlung noch gesteigert. Die auf

Digitized by Google

diese Weise gereinigten und geprüften Salpeterlösungen werden nun teils als Lösungen aufbewahrt (etwa zur Hälfte), teils zur Gewinnung der festen Salze eingedampft. Durch Bestimmung des spezifischen Gewichts kann man leicht den Salzgehalt der durch die Reinigungsmethode etwas verdünnten Lösungen erfahren. Ist man den hier gemachten Erfahrungen gefolgt, so wird man durch Vermischen äquivalenter Lösungsmengen (etwa der Hälfte der beiden Lösungen) eine Lösung von etwa 23% Natriumkaliumnitrat erhalten. Die anderen Hälften der Lösungen engt man in Schalen auf dem Wasserbad ein, bis der grösste Teil des Salzes ausgeschieden ist. Nach dem Erkalten trocknet man das Salz an der Luft auf mehrfachen Lagen Fliesspapier und mischt gleiche Teile miteinander. Dieses Salzgemisch wird in einer Pulverflasche aufbewahrt, um für die Salpeterschmelze verwendet zu werden.

b) Das Zerstörungsverfahren besteht in der Behandlung der organischen Substanz mit einigen Kubikzentimetern eines Gemisches von 9 Teilen rauchender Salpetersäure und 1 Teil konzentrierter Schwefelsäure (Säurebehandlung) und der Schmelze mit Natriumkaliumnitrat (Salpeterschmelze). Dadurch wird alle organische Substanz vollständig zerstört, das heisst in organische Alkalisalze (Karbonat, Sulfat, Phosphat usw.) übergeführt und auch alles Arsen in Alkaliarseniat verwandelt, das sich aus der wässerigen Lösung dann durch Eisenhydroxyd quantitativ fällen lässt. Zu der Salpeterschmelze verwendet man am vorteilhaftesten eine Schale oder einen Tiegel aus Platin.

Der Harn (in einzelnen Proben oder die ganze Tagesmenge) wird entweder mit 10—15% seines Volumens von der oben beschriebenen Salpeterlösung (23% $(NaK)NO_3$) oder mit 2,5—3,5% festem Natriumkaliumnitrat versetzt und dann in einer nicht zu grossen Porzellanschale unter wiederholtem Nachfüllen auf dem Wasserbade eingedampft. Der Abdampfungsrückstand wird nach und nach mit einem Gemisch von 9 Teilen rauchender Salpetersäure und einem Teil konzentrierter Schwefelsäure behandelt, und zwar fügt man tropfenweise unter möglichst gleichmässiger Verteilung so viel hinzu, dass im ganzen etwa 1% der Harnmenge, aber nicht unter 5 ccm gebraucht werden. Man erhält dann einen gelbbraunen Rückstand, der in der Art mit Salpeter geschmolzen wird, dass man in einer Schale oder einem Tiegel aus Platin oder Porzellan zunächst 5—10 g gereinigtes Kaliumnatriumnitrat mit möglichst kleiner Flamme zum Schmelzen bringt und dann den eventuell angefeuchteten Abdampfrückstand von der Säurebehandlung in kleinen Portionen mit einem Platinspatel einträgt.

c) Zur Abscheidung des Arsens aus der Zerstörungsmasse verfährt man folgendermassen: Die Salpeterschmelze wird mit Wasser in ein Becherglas gebracht (hat man ein Platingefäss für die Schmelze verwendet, so setzt man dieses am besten noch heiss in kaltes Wasser, die erstarrende Schmelze löst sich dann leicht von der Wandung ab) und unter Erwärmen gelöst. Dabei fügt man unter Umrühren allmählich aus einem Messzylinder verdünnte (20%) Schwefel-

Digitized by Google

säure hinzu, so lange als sich noch Kohlensäure und Stickstoffoxyde entwickeln; man prüft mit einem Tropfen auf Lackmuspapier und setzt so viel Säure hinzu, dass die Reaktion schwach sauer bleibt. Sind dann alle Gase unter Erhitzen ausgetrieben, so lässt man erkalten, fügt einige Tropfen Methylorange hinzu und neutralisiert die Lösung mit Ammoniak. Man lässt dann von der oben erwähnten Eisenlösung eine bestimmte Anzahl Kubikzentimeter hinzulaufen, und nachdem diese mit der Lösung gleichmässig vermischt sind, fügt man dasselbe Volumen von der eingestellten Ammoniaklösung unter Umrühren hinzu. In der ersten Fällung wird der grösste Teil des Eisens als Ferriphosphat abgeschieden. Dadurch wird die Adsorptionskraft des Eisens für Arsen beeinträchtigt und man wird daher — natürlich je nach der Menge und Arsengehalt des Untersuchungsobjektes und nach Menge der angewendeten Eisenlösung — das Arsen grösstenteils vielleicht erst in der zweiten Fällung finden. Der Eisenniederschlag wird nach etwa halbstündigem Stehen abfiltriert und zur Entfernung der anhaftenden Salpetersäure mit kaltem Wasser ausgewaschen, bis das Waschwasser mit Diphenylamin keine Salpeterreaktion mehr gibt. Das Waschwasser fängt man gesondert auf und engt es auf dem Wasserbade ein, um es dann der Hauptlösung vor der zweiten oder (zum Beispiel bei solchen phosphorhaltigen Objekten, die mehrere Fällungen erfordern) zusammen mit den eingeengten Waschwassern der folgenden Fällungen vor der letzten Fällung wieder zuzufügen. Man muss die Eisenfällungen natürlich so lange wiederholen, bis sich der letzte Niederschlag als ganz oder fast arsenfrei erweist. Für die Verarbeitung von 500 ccm Harn würde sich empfehlen, von der Eisen- und der Ammoniaklösung zu verwenden: für die erste Fällung 25 ccm, für die zweite 15 ccm, für die dritte 10 ccm und für die vierte 5 ccm. Die einzelnen Eisenfällungen werden nach Beendigung des Auswaschens in heisser 20%iger Schwefelsäure gelöst und die Lösung mit derselben Säure auf ein bestimmtes Volumen (zum Beispiel 50 oder 100 ccm) aufgefüllt. Diese schwefelsauren Lösungen werden dann zur Prüfung im Marshschen Apparat benutzt.

II. Nachweis im Marshschen Apparat.

Diese in ihren Anfängen auf Berzelius zurückgehende Methodik wird am besten in folgender von Treadwell und Lockemann verbesserter Form ausgeführt:

Der etwa 100—150 ccm fassende Kolben K ist mit dem mit Teilung versehenen Trichter T, dem mit krystallisiertem Chlorcalcium beschickten Trockenrohr C und der Sicherheitsröhre E versehen. An letztere schliesst sich das Zersetzungsrohr an, das bei A und B mit Kupferdrahtnetz und bei d mit einem Lampendocht umwickelt ist, auf den aus der Schale w (besser einem Becherglas) aus dem mit dem Quetschhahn q versehenen Schlauch a zur Kühlung beständig Wasser tropft.

Digitized by Google

Bei der Ausführung des Arsennachweises verfährt man folgendermassen: In das Entwickelungsgefäss k des Marsh schen Apparates bringt man 5—6 Stückchen verkupferten Zinks, hergestellt aus garantiert arsenfreiem Stangenzink „Kahlbaum", welches zerkleinert, in einer $^1/_2$%igen Kupfersulfatlösung etwa 1 Minute hin und hergeschüttelt und dann mit Wasser mehrmals abgespült wurde. Die Apparate werden geschlossen und aus den Hahntrichtern lässt man 10 ccm Wasser hineinlaufen, so dass die unteren Öffnungen der Steigrohre ganz in

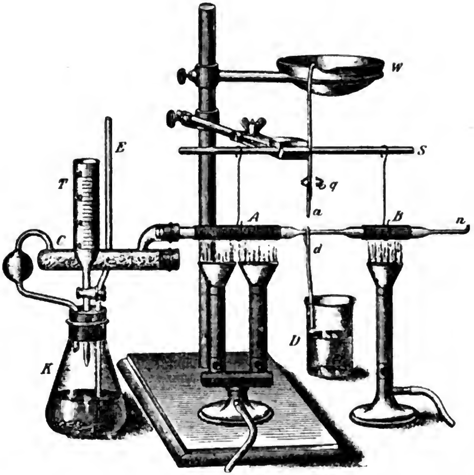


Fig. 46.

Wasser eintauchen. Sodann werden die Glühröhren mit Gummistopfen in die Ansätze der Trockenrohre eingesetzt und auf dem anderen Ende zwischen Klammern befestigt. Nachdem die oberen Öffnungen der Steigrohre mit den vom Kipp schen Apparat herführenden Gummischläuchen verbunden sind, öffnet man den Hahn des mit Zink-Kupferlegierung und „Salzsäure für forensische Zwecke" gefüllten Kipp schen Apparates und überzeugt sich zunächst, ob die Marsh schen Apparate völlig dicht halten. Ist dieses der Fall, so bricht man die Spitzen der Glühröhren ab und leitet etwa $^1/_2$ Stunde lang den Wasserstoffstrom durch die Apparate. Alsdann lässt man aus den Hahntrichtern 10 ccm

Digitized by Google

40%ige Schwefelsäure in die Entwickelungsgefässe fliessen, die durch die darin vorhandene gleiche Wassermenge auf die halbe Konzentration verdünnt, mit den Zinkstückchen alsbald Wasserstoff entwickelt. Nach Entfernung der Gummischläuche von den Steigrohren sind die Apparate gebrauchsfertig. Die Gasflammen werden entzündet und richtig eingestellt, die Drahtnetz-Schutzhüllen aufgesetzt und die feuchten Kühlfäden um die verengten Stellen der Glühröhren zwei- bis dreimal herumgeschlungen, während das obere Becherglas ganz mit Eis und Wasser gefüllt wird. Bemerkt man nach einiger Zeit im Innern der gekühlten Stellen weder Wassertropfen noch Arsenspiegel, so bringt man von den zu prüfenden Lösungen abgemessene Mengen, etwa $^1/_{10}$ oder $^1/_4$, in die Hahntrichter und lässt sie unter Nachspülen mit 20%iger Schwefelsäure in die Apparate laufen. Nach 2 Stunden, während welcher Zeit man die Gasentwickelung und die Kühlung kontrolliert, wird der Versuch abgebrochen. Die erhaltenen Arsenspiegel vergleicht man mit den Spiegeln einer mit abgemessenen Arsenmengen hergestellten Normalskala. Am besten lassen sich die ganz kleinen Arsenmengen, etwa bis zu 12—15 mg As, schätzen. Es ist daher ratsam, wenn man z. B. die Abscheidung und Zerstörung nach Lockemann vorgenommen hat, von den Eisenlösungen nur so viel für die Prüfung im Marshschen Apparat zu verwenden, dass die Arsenspiegel unterhalb dieser Grenze bleiben. Nötigenfalls ist ein Teil der Eisenlösung noch mit 20%iger Schwefelsäure auf das 10- oder 100fache zu verdünnen. Wenn man dann mehrere Proben mit verschiedenen Mengen prüft und jeden so erhaltenen Arsenspiegel für sich durch Vergleich mit den Normalspiegeln wertet, so erhält man durch entsprechende Umrechnung auf das Ganze Zahlen, deren Mittelwert dann den wirklichen Arsengehalt der Lösung mit ziemlicher Genauigkeit angibt.

Qualitativ kann man sich noch davon überzeugen, dass die braunen Arsenflecken sofort verschwinden, wenn sie mit einer Lösung von Natriumhypochlorit betupft werden. Man kann auch in das austretende, nach Knoblauch riechende Gas ein mit 50%iger Silbernitratlösung befeuchtetes Filtrierpapier halten: es bildet sich ein zitronengelber Fleck, der beim Aufbringen von Wasser schwarz wird. (Probe von Gutzeit.)

Nachweis nach anderen Verfahren.

5. Nach E. Reichardt.

Reichardt[1]) hat zum Nachweis des Arsens im Harn ein Verfahren zur Anwendung gebracht, welches auf der Abscheidung des Arsens als Sulfid und Zerlegung des Arsenwasserstoffs durch salpetersaures Silber beruht.

Der schwach angesäuerte Harn wird mit Schwefelwasserstoff gesättigt, der entstandene Niederschlag nach 12—24 Stunden abfiltriert, ausgewaschen und das Filter mit Bromwasser ausgelaugt, wobei das gefällte Schwefelarsen in Lösung geht. Die Lösung giesst man in eine Gasentwicklungsflasche, in welcher aus reinem Zink und reiner Schwefelsäure ein mässig schneller Wasserstoffstrom entwickelt wird,

[1]) Bd. d. deutsch. chem. Ges. **13**. 1888, 2094. 1880.

Digitized by Google

und leitet das Gas in eine saure Lösung von salpetersaurem Silber (0,1—0,2 g salpetersaures Silber, 2 g Salpetersäure und 10 ccm Wasser). Bei Gegenwart von Arsenwasserstoff in dem Gase entsteht dann in der Flüssigkeit ein schwarzbrauner Niederschlag von metallischem Arsen oder es setzt sich an der Spitze des in die Flüssigkeit eintauchenden Rohres ein spiegelnder Anflug von der Farbe der Arsenflecke an. Wenn die Silberlösung über dem Niederschlag nicht mehr gefärbt ist, setzt man Bromwasser im Überschuss zu derselben, filtriert das Bromsilber ab, befreit das gelbe Filtrat durch gelindes Erwärmen vom Brom, übersättigt mit Ammoniak und setzt Magnesiamischung zu. Nach 12—24 Stunden wird der entstandene Niederschlag von arsensaurer Ammon-Magnesia abfiltriert, gewaschen, geglüht und gewogen (genauere Vorschrift siehe unter Bestimmung). Nach dieser Methode lässt sich noch 0,0014 mg arsenige Säure nachweisen und 1—5 mg bestimmen. — Auf die Reinheit der Reagentien prüft man nach demselben Verfahren.

6. Nach C. E. Carlson[1]).

Das Verfahren beruht auf der Reaktion B 5.

500 ccm Harn werden im Wasserbad eingeengt und der Rückstand in 60—70 ccm HCl (spezifisches Gewicht 1,19) aufgelöst. Durch den Zusatz der Säure in Portionen von 20—25 ccm kann man den gesamten Rückstand in einen 700 ccm-Destillationskolben bringen. Man setzt 10 g Eisenchlorid und 5 g Ferrosulfat hinzu, letzteres zum Zwecke der Reduktion von zufällig vorhandener Arsensäure. Den Kolben versieht man mit einem im Winkel gebogenen Glasröhrchen, das mit einer Ligatur und einer Pipette von 30 ccm Inhalt verbunden ist, deren Spitze in 50 ccm eisgekühltes Wasser ausläuft. Nun destilliert man, bis der weitere Teil der Pipette so warm wird, dass er mit der Hand kaum berührt werden kann. Das farblose Destillat füllt man in einen Scheidetrichter und versetzt es mit 15 ccm Schwefelwasserstoffwasser. Nach 15 Minuten setzt man 15 ccm Äther hinzu und schüttelt 1—2 Minuten und gibt noch etwas Alkohol hinzu. Ist Schwefelarsen vorhanden, so fällt es in schönen, gelben Flocken aus, ist das nicht der Fall, so setzt man so viel Chloroform zu, dass Äther und Chloroform zu Boden sinken, zapft diese Lösung ab in ein Becherglas, das 2 ccm 25%iger Salpetersäure enthält und spült den Scheidetrichter noch zweimal mit je 10 ccm Chloroformäther aus. Die chloroformätherische Lösung wird in einem Becherglas auf dem Wasserbad zur Trockne verdunstet. Nach Zusatz von 1 ccm 30%iger Schwefelsäure samt 2 ccm 5%iger Kaliumpermanganatlösung wird das ganze 10—15 Minuten auf dem Wasserbade erhitzt. Dann werden 10 ccm starke schweflige Säurelösung zugefügt und die Mischung fast bis zur Trockne verdunstet. Im Rückstand kann man das Arsen mit der Marshschen Probe oder sonstwie nachweisen.

Für die quantitative Bestimmung wird der Becherglasinhalt in ein Probierröhrchen gebracht und bis zum Sieden erhitzt, damit die schweflige Säure völlig verjagt wird. Nach dem Abkühlen setzt man 10 Tropfen

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 68. 243. 1910.

Digitized by Google

Schwefelwasserstoffwasser hinzu und nach einigen Minuten 1—2 ccm Äther. Nach kräftigem Schütteln der Mischung und Zusatz von einigen Kubikzentimeter Alkohol zeigt sich das Arsensulfid in gewöhnlicher Weise. Es konnten noch 0,075 ccm Arsen in 500 ccm Urin nachgewiesen werden.

7. Nach Ch. R. Sanger und C. F. Black[1]).

Das Verfahren beruht darauf, dass Arsentrichlorid flüchtig ist (B. 6.), so dass durch Eindampfen seiner salzsauren Lösung alles als Oxydul vorhandene Arsen verflüchtigt werden kann.

Man dampft 200 ccm Harn ein auf 25 ccm, bringt sie in Fraktionierkölbchen mit rechtwinklig nach unten gebogenem, mit einem Kühler versehenen Rohr. Der Kühler endet mit einem dazwischen geschalteten Kugelrohr in ein Kölbchen mit 25 ccm konzentrierter Salpetersäure. Zum Harnrückstand setzt man 100 ccm konzentrierte Salzsäure und destilliert in 30—40 Minuten die Hälfte ab. Das Destillat wird mit 25 ccm Salpetersäure eingedampft, der Rückstand mit 2—5 ccm Schwefelsäure und Salpetersäure versetzt bis zur Farblosigkeit erhitzt und mit genau 25 ccm Wasser verdünnt und dann im Marshschen Apparat das Arsen bestimmt. Es wurden noch 0,01 mg Arsen im Liter gefunden.

8. Nach Gutscheid-Burnaschew[2]).

50 ccm Harn werden mit 2—3 ccm HNO_3 (D = 1,4) und 3—4 g MgO zur Trockne gedampft und verascht. (Die Reagentien müssen arsenfrei sein.) Der Rückstand wird in überschüssiger verdünnter H_2SO_4 gelöst, in einem besonderen Apparat mittelst Zn das As in AsH_3 übergeführt. Dieser wird mit Chlorkupfer gewaschen und durch ein Filtrierpapierdiaphragma hindurchgeschickt, das mit Sublimatlösung befeuchtet ist. Dabei bildet sich $As(HgCl)_3$. Das überschüssige $HgCl_2$ wird mit Äther entfernt, das As durch gelbes Schwefelammonium aus seiner Verbindung befreit und zugleich das Hg in HgS übergeführt. Dieses gibt durch seine schwarze Farbe die Möglichkeit einer kolorimetrischen As-Bestimmung. Die Fehlergrenze beträgt 10%. Nachgewiesen werden 0,5 bis 5 mg As.

D. Bestimmung. Die quantitative Bestimmung des Arsens wird bei höherem Arsengehalt gravimetrisch vorgenommen, indem das Arsen, welches durch Salpetersäurebehandlung als Arseniat vorhanden sein muss, als Magnesiumarseniat gefällt, im Gooch-Tiegel filtriert und als Magnesiumpyroarseniat zur Wägung gebracht wird. Das nach B. 2. gefällte Arsensulfid wird wiederholt mit Salpetersäure eingedampft, in Wasser gelöst, die Lösung filtriert und auf je 50 ccm Lösung mit ca. 10—20 ccm $n/_2$-NH_4Cl-Lösung versetzt, hierauf wird tropfenweise unter beständigem Umrühren mit 20 ccm Magnesiamixtur und dann mit $^1/_3$ des Volumens an starkem Ammoniak versetzt, dann 12 Stunden

[1]) Zeitschr. f. anorg. Chemie. 56, 153. — Jahresber. f. Tierchem. 39. 283. Vgl. auch Journ. Soc. Chem. Ind. 26, 1115.

[2]) Wien. klin. Wochenschr. 25. 588. 1912.

stehen gelassen, durch einen Gooch-Tiegel filtriert und mit $2^1/_2$%igem Ammoniak zuerst durch Dekantation, dann im Tiegel bis zum Verschwinden der Chlorreaktion ausgewaschen. Nachdem man den Niederschlag bei 110° getrocknet hat, setzt man den Gooch-Tiegel mittels eines Asbestringes derart in einen grösseren Porzellantiegel, dass sein Boden nur einige Millimeter vom Boden des äusseren Tiegels entfernt ist, bedeckt den Niederschlag mit einer dünnen Schicht Ammoniumnitrat und erhitzt zunächst gelinde und dann zur hellen Rotglut. Von dem erhaltenen Pyroarseniat sind 48,27% (log. 68372) Arsen.

Bei kleineren Arsenmengen kann man entweder den erhaltenen Arsenspiegel wägen (Wägung des Glases mit dem Arsenspiegel und ohne ihn, nachdem man ihn durch Erwärmen mit Salpetersäure entfernt hat) oder ihn kolorimetrisch vergleichen mit Spiegeln, die aus bekannten Mengen von Arsenik in gleicher Weise gewonnen sind (s. oben bei Lockemann).

3. Antimon.

Kleine Mengen Antimon (bis 1 mg und darunter) lassen sich nach Chittenden und Blake[1]) noch gewinnen, wenn man den Harn nach Zusatz von 0,04 Volumen verdünnter Schwefelsäure 16—48 Stunden lang elektrolysiert. Gute Resultate erzielt man auch, wenn man das Antimon nach Zerstörung der organischen Substanz mit Schwefelwasserstoff fällt, den Niederschlag in Schwefelalkali löst und die Lösung nach Classen[2]) der Elektrolyse unterwirft.

4. Blei.

Für die Abscheidung kleiner Mengen Blei aus Harn hat V. Lehmann[3]) zweckmässig befunden, die organische Substanz mit chlorsaurem Kali und Salzsäure zu zerstören (s. bei Quecksilber, S. 1417), die Flüssigkeit einzudampfen, wieder zu verdünnen und mit einem Strom Schwefelwasserstoff zu behandeln; der ausgefallene schwarze Niederschlag ist dann weiter zu untersuchen. — Ebenso kleine Mengen Blei lassen sich durch direkte Elektrolyse des Harns niederschlagen.

5. Silber.

Silber wird nach Lehmann[4]) am vollkommensten durch Glühen mit Salpeter und Soda abgeschieden. Der Harn wird dazu mit

---

[1]) R. H. Chittenden u. J. H. Blake, Studies from the lab. of. physiol. chem. of Yale Univ. New Haven 1887. 68.
[2]) A. Classen, Ber. d. chem. Gesellsch. 17. 2474 u. 18. 1104.
[3]) V. Lehmann, Zeitschr. f. physiol. Ch. 6. 4. 1882.
[4]) Lehmann, a. a. O. 13.

Digitized by Google

10 g Salpeter und 6 g Soda auf 10 ccm eingedampft, der Rückstand geschmolzen, die Schmelze in heissem Wasser gelöst, das zurückbleibende metallische Silber in warmer, verdünnter Salpetersäure gelöst und die Lösung mit Salzsäure auf Silber geprüft.

6. Thallium.

Der Nachweis des Thalliums im Harn gelingt nach W. Marmé[1]) leicht durch Elektrolyse des mit chlorsaurem Kali und Salzsäure behandelten und später eingeengten Harns. Das auf diese Weise an einem Platindraht fixierte und vorsichtig mit destilliertem Wasser gereinigte Metall bringt man direkt in die Flamme des Spektralapparats, wobei jedoch ausser der Kathode auch die Anode zu prüfen ist.

7. Cadmium.

Nachweisung nach Marmé ebenfalls durch Elektrolyse des mit chlorsaurem Kali und Salzsäure behandelten Harns.

8. Lithium.

Nach Berger beginnt die Ausscheidung sehr bald, kommt jedoch sehr langsam zu Ende.

Man verdampft eine genügende Menge des fraglichen Harns zur Trockne und verkohlt den Rückstand bei mässiger Hitze vollständig. Nach dem Erkalten zieht man die Kohle mit verdünnter Salzsäure aus, filtriert, verdampft das farblose Filtrat zur Trockne, behandelt mit starkem Alkohol, filtriert, verdunstet die alkoholische Lösung zur Trockne und prüft den jetzt gebliebenen Rückstand spektralanalytisch. Die Nachweisung des Lithiums ist in angegebener Weise, nach innerlichem Gebrauch desselben, Neubauer jedesmal mit absoluter Sicherheit gelungen.

Auf Veranlassung von A. Heffter hat Fr. Berger[2]) folgendes Verfahren ausgearbeitet:

Der in einer Platinschale eingedampfte Harn wird verkohlt, die Kohle mit schwach salzsaurem heissem Wasser ausgezogen und so lange ausgewaschen, bis in Filtrat und Filterrückstand spektroskopisch kein Lithium mehr nachweisbar ist. Das Filtrat versetzt man mit Kalkmilch bis zur alkalischen Reaktion, erwärmt gelinde und fügt Barytwasser hinzu so lange, als noch eine Trübung auftritt. Darauf erhitzt man zum Sieden, filtriert heiss und wäscht gründlich mit heissem Wasser nach. Im Filtrat fällt man mit Ammoniak und gesättigter Ammoniumcarbonatlösung die alkalischen Erden, erhitzt zum Sieden und filtriert heiss und wäscht aus. Das mit Salzsäure angesäuerte Filtrat wird in einer Platinschale zur Trockne verdampft und schwach geglüht, bis alle Ammoniumsalze vertrieben sind. Der Inhalt der Platinschale wird mit möglichst wenig Wasser aufgenommen, in einen 50 ccm fassenden Erlenmeyerkolben gebracht, mit ca. 10 ccm Amylalkohol überschichtet und langsam zum Sieden erhitzt, indem man einen schwachen Luftstrom durchsaugt und den verdampfenden Amylalkohol von Zeit zu Zeit ersetzt. Sobald das Wasser verjagt ist, scheidet sich Kalium- und Natriumchlorid aus. Zu der klaren amylalkoholischen Lösung fügt man drei Tropfen konzentrierte Salzsäure, erhitzt kurze Zeit weiter, bis die Lösung wieder klar ist, filtriert heiss durch ein kleines Asbestfilter, wäscht dieses sowie die zurückbleibenden Krystallkrusten mit heissem ausgekochtem Amylalkohol aus und verdunstet das Filtrat zur Trockne. Der Rückstand wird in verdünnter Schwefelsäure gelöst, durch ein

[1]) W. Marmé, Zeitschr. f. anal. Chemie 6. 503. 298.
[2]) Berger, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 55. 1. 1906.

Digitized by Google

kleines Asbestfilter in einen gewogenen Platintiegel filtriert, das Filter mit warmem Wasser nachgewaschen und die Flüssigkeit langsam verdampft. Um einem Verlust durch Spritzen vorzubeugen, hängt man den Tiegel in einem Tondreieck über einem Asbestdrahtnetz so auf, dass er das Drahtnetz nicht berührt, wodurch ein gleichmässiges, ruhiges Verdampfen des Wassers wie auch der Schwefelsäure erzielt wird, den Rest der Schwefelsäure verjagt man über freier Flamme, glüht schwach und wägt. Da das so erhaltene Lithiumsulfat noch geringe Mengen Kalium- und Natriumsulfat enthält, so bringt man nach Gooch eine Korrektur derart an, dass man vom Gewicht des Lithiumsulfats für je 10 ccm des Filtrats (ausschliesslich des Waschalkohols) 0,92 mg abzieht. Bei der Ausführung dieses Verfahrens ist besonders darauf zu achten, dass alle Fällungen, die zur Entfernung der Phosphorsäure, Schwefelsäure und der alkalischen Erden erforderlich sind, bei Siedehitze vorgenommen werden oder nachträglich zum Sieden erhitzt werden. Andernfalls erleidet man infolge der geringen Löslichkeit des Lithiumcarbonats, das sich aus den Niederschlägen durch Auswaschen sehr schwer entfernen lässt, leicht Verluste. Ferner ist es notwendig, dass sämtliche zur Verwendung kommenden Chemikalien ebenso der Asbest ganz eisenfrei sind. Insbesondere bildet der Eisengehalt des zum Filtrieren verwendeten Asbests leicht eine Fehlerquelle. Aus demselben Grunde müssten die beim Verdampfen der Alkalichloridlösung zur Verhütung des Stossens verwendeten Siedesteinchen durch eine Platinspirale ersetzt werden. Beim Abdampfen der mit Amylalkohol überschichteten Chloridlösung lässt sich ein trotz der Platinspirale und des Luftdurchleitens hier und da vorkommendes Stossen dadurch vollständig vermeiden, dass man den Erlenmeyer in schiefer Lage etwa 1 cm hoch über einem Asbestdrahtnetz einklemmt. Der Amylalkohol wurde immer erst dann zugefügt, nachdem die Alkalichloridlösung auf etwa 10 ccm eingedampft war.

9. Wismut.

Die Ausscheidung von Wismut auch beim Menschen nach innerlicher Darreichung ist durch Dorner und Weingärtner[1]) einwandfrei bewiesen. Zum Nachweis wird die organische Substanz des Harns mit Kaliumchlorat und Salzsäure (s. Quecksilber S. 1417) zerstört und nach Vertreibung des Chlors das Metall als Sulfid gefällt. Dieses löst sich in konzentrierter Salzsäure, die Lösung trübt sich aber in charakteristischer Weise beim Verdünnen mit Wasser durch Bildung des basischen Salzes (Oxychlorids):

$$BiCl_3 + H_2O \rightleftarrows BiOCl + 2\,HCl$$

Das Sulfid dient auch zur quantitativen Bestimmung des Metalls nach dem in den Lehrbüchern der analytischen Chemie angegebenen Verfahren.

B. Säuren.

1. Pyrophosphorsäure.

Den Nachweis der Pyrophosphorsäure, welche unverändert in den Harn übergeht, gründen Pacquelin und Joly[2]) auf den Umstand, dass die Pyrophosphate durch Salpeter-Molybdänsäure nicht gefällt werden, aber bei längerer Einwirkung konzentrierter Säuren oder Alkalien in der Wärme in Orthophosphate verwandelt werden und nun durch Salpeter-Molybdänsäure fällbar sind.

[1]) G. Dorner und Weingärtner, Zeitschr. f. klin. Med. 68. 258. 1909.
[2]) Pacquelin und Joly, Comptes rendus 85. 410.

Nach Starkenstein[1]) ergibt die Urantitration der Pyrophosphorsäure bei Verwendung von Cochenille als Indikator den berechneten P_2O_5-Gehalt, bei Verwendung von Ferrocyankalium jedoch nur die Hälfte desselben. Von den vier durch UO_2 ersetzbaren H-Valenzen entsprechen zwei an Stärke denen der Phosphorsäure und diese bilden ein unlösliches Uransalz. Die beiden anderen kommen jedoch an Stärke denen der Glycerinphosphorsäure gleich und sind daher bei Verwendung von Ferrocyankalium als Indikator nicht verwendbar. Wie die Pyrophosphorsäure verhält sich auch die Inositphosphorsäure. Metaphosphorsäure gibt bei der Urantitration nur den halben Wert an P_2O_5, kann aber ebensowenig wie Glycerinphosphorsäure mit Ferrocyankalium titriert werden.

2. Chlorsäure.

a) Die Chlorsäure lässt sich im Harn nach Rabuteau[2]) leicht mittels der Indigoprobe nachweisen. Der Harn wird schwach mit Indigschwefelsäure und in genügender Menge mit schwefliger Säure versetzt; das Chlor, welches bei der Reduktion der Chlorsäure durch die schweflige Säure frei wird, entfärbt den Indigo.

b) Einfacher gestaltet sich der Nachweis nach Edlefsen[3]), wenn man den Harn mit $\frac{1}{4}$ Volumen konzentrierter Salzsäure erwärmt. Durch die Zersetzung des Indicans färbt sich der Harn dabei zunächst dunkelrötlich oder bläulichbraun; gleichzeitig wird aber die Chlorsäure durch organische Harnbestandteile reduziert, und infolge davon verschwindet in der Nähe des Siedpunkts die durch die Indigfarbstoffe bedingte Färbung des Harns und macht einer hellbräunlichen oder hellgelblichen Färbung Platz; schliesslich wird der Harn völlig entfärbt und entwickelt Lackmus bleichende Dämpfe. Es ist Edlefsen kein Harn vorgekommen, der so wenig Indican enthielt, dass die Probe nicht gelang. Fällt sie nicht überzeugend aus, so braucht man dem Harn nur noch etwas Indiglösung zuzusetzen.

c) Zum Zweck der quantitativen Bestimmung der in den Harn übergegangenen Chlorsäure fällt man nach Rabuteau[4]) den Harn vollständig mit salpetersaurem Silberoxyd aus, entfernt das überschüssige Silber aus dem Filtrat mit chlorfreiem kohlensaurem Natron, filtriert abermals, verdunstet zur Trockne und erhitzt den Rückstand zum Glühen. Das vorhandene chlorsaure Kali geht hierbei in Chloralkali über, dessen Menge sich leicht auf gewöhnlichem Wege bestimmen lässt.

d) Nach M. Scholtz und H. Hildebrandt[5]) kann man nach Ausfällung der Chloride die Reduktion auch mit Natriumnitrit (10 %) vornehmen.

e) J. F. Virgili[6]) weist das Kaliumchlorat im Harn nach, indem er zu 1 ccm Harn 4 ccm eines Reagens setzt, das aus 50 g Anilinchlorhydrat in 1 Liter verdünnter Salzsäure besteht. Man erhält bei Anwesenheit von Chlorat sofort eine Purpurfärbung, sind mehr als 1 g Chlorat im Liter vorhanden, so tritt anfangs auch die Purpurfärbung auf, später aber durch die Einwirkung der Chlorate auf das Anilin eine hellblaue oder purpurblaue Farbe.

[1]) E. Starkenstein, Biochem. Zeitschr. **32**. 235. 1911.

[2]) Rabuteau, Gazette méd. de Paris, 1868. 665; Zeitschr. f. analyt. Ch. 8. 233.

[3]) Edlefsen, Arch. f. klin. Med. **19**. 94.

[4]) Rabuteau, Gazette méd. de Paris, 1868. 666; Zeitschr. f. analyt. Ch. 8. 233.

[5]) M. Scholtz, Arch. d. Pharm. **243**, 353; — H. Hildebrandt, Vierteljahrsschr. f. ger. Med. **32**. 80. 1907

[6]) J. F. Virgili, Annal. Chim. anal. appl. 1909. 1470.

Digitized by Google

3. Jodwasserstoff.

Die Ausscheidung der Jodide setzt sofort nach ihrer Einnahme ein, ist aber sehr langwierig, quantitativ ist sie individuell sehr verschieden und unabhängig von der Art des eingeführten Kations. Bei organischen Verbindungen hängt die Jodabscheidung ab von der Geschwindigkeit ihres Abbaues resp. der Abspaltung der Jodionen. Nach Zufuhr von Jodoform können gelegentlich auch Jodate im Harn erscheinen[1]).

Man setzt das Jod durch salpetrige Säure oder durch Brom oder Chlor in Freiheit und weist es entweder durch Stärkelösung nach, oder indem man es durch Schütteln der Flüssigkeit mit Schwefelkohlenstoff (Chloroform, Äther, Petroleum, Benzol) in diesen überführt. Beim Nachweis entstehen dadurch Schwierigkeiten, dass der Harn nicht bloss reichlich Jod bindende Substanzen enthält, sondern dass sich auch die Reagentien vor allem mit dem Harnstoff umsetzen und so dem beabsichtigten Zweck entzogen werden. Ein Überschuss von Chlor oder Brom bindet das Jod und verhindert den Nachweis.

Nach Sandland[2]) färben 5 ccm Harn, welcher in 100 ccm nur 1 mg KJ enthält, auf Zusatz von 1 ccm vierfach verdünnter Schwefelsäure und 1—3 Tropfen 0,2%iger Natriumnitritlösung Schwefelkohlenstoff oder Chloroform noch deutlich rosa.

Zur Entwickelung des Jods eignet sich auch statt der salpetrigen Säure gelbe oder rote Salpetersäure, Neubauer gibt der Reaktion mit Bromwasser vor allen andern den Vorzug. Jolles[3]) mischt den Harn im Reagenzglas mit dem gleichen Volumen konzentrierter Salzsäure und überschichtet die Mischung mit 2—3 Tropfen schwachem Chlorwasser; selbst bei Gegenwart von nur wenig Jod entsteht an der Oberfläche eine braungelbe Schicht, die auf Zusatz von Stärkelösung blau wird.

Scivoletto tränkt Streifen von Filtrierpapier mit Stärkekleister, besprengt dieselben nach dem Trocknen mit dem auf Jod zu prüfenden Harn und hängt sie darauf frei in dem oberen Teil eines Kölbchens auf, an dessen Boden sich etwas rauchende Salpetersäure befindet. Bei Gegenwart von Jod färben sich die besprengten Stellen blau.

Alle diese Methoden können bei geringem Jodgehalt des Harns versagen. Sicher verfährt man, wenn man den Harn unter Zusatz eines Alkalihydrats oder -Carbonats verdampft, den Rückstand verkohlt und den wässerigen Auszug der Kohle für die Proben auf Jod verwendet.

Brücke empfiehlt dazu den Harn mit kohlensaurem Natron stark alkalisch zu machen. Castain versetzt ca. 0,5 Liter Harn mit 2 g Kaliumhydrat. Beachtenswert ist in dieser Hinsicht, dass das käufliche Ätznatron (Natr. caust. fusum), auch das mit Alkohol gereinigte, nach Autenrieth[4]) immer (in 10—15 g) deutlich nachweisbare Mengen Jod enthält.

---

[1]) A. Heffter, Med. Klin. 1910. Nr. 8. — Anten, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **48**. 331. 1902. — G. Basch, Zeitschr. f. physiol. Chem. **55**. 397. 1908.

[2]) H. Sandland, Arch. d. Pharm **232**. 177. 1893; Zeitschr. f. analyt. Ch. **34**. 124. 1895.

[3]) A. Jolles, Zeitschr. f. anal. Ch. **30**. 288. 1891.

[4]) Brücke, Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wiss. **63**. 2. Abt. 216. 1871. — Castain, Bull. de Thérap. **61**. 266. 1861. — W. Autenrieth, Zeitschr. f. physiol. Ch. **22**. 512. 1897.

Digitized by Google

Bestimmung des Jodwasserstoffs.

I. Verfahren von Kersting[1]).

A. Prinzip. Die Bestimmung beruht auf der titrimetrischen Fällung des Jodwasserstoffs durch Palladiumchlorür. (Unterschied von Chlor und Brom.)

$$2\,KJ + PdCl_2 = PdJ_2 + 2\,KCl.$$

Der Jodwasserstoff wird aus dem mit Schwefelsäure versetzten Harn abdestilliert. Mit dem Destillat wird eine mit Salzsäure angesäuerte Palladiumchlorürlösung bei 60—100° versetzt, wobei sich das schwarze Palladiumjodür schnell zu Boden setzt. Fügt man dagegen das Chlorür überschüssigem Jodwasserstoff hinzu, so erfolgt die Bildung des Niederschlags viel langsamer und die Wand des Glases bedeckt sich mit einem schwarzen Überzug. Da die Mischung beim Erwärmen und Schütteln fast absolut klar wird, und da sich ferner noch $^1/_{30}$—$^1/_{300}$ mg Jod mittels Palladium deutlich durch eine entstehende braune Färbung entdecken lässt, so fallen die Bestimmungen nach Versuchen, die Neubauer mit reinem Jodkalium anstellte, sehr genau aus.

B. Erfordernisse.

1. Jodkaliumlösung mit 1 g Jod im Liter. Es werden 1,3083 g jodsäurefreies Jodkalium zum Liter aufgelöst.

Die Gegenwart von Jodsäure im Jodkalium erkennt man daran, dass sich verdünnte Schwefelsäure, mit der man das Salz übergiesst, braun färbt. Die zur Prüfung verwendete Schwefelsäure darf keine salpetrige Säure enthalten; man befreit die Schwefelsäure von den Sauerstoffverbindungen des Stickstoffs, indem man konzentrierte Schwefelsäure in einer Porzellanschale mit 0,3 % Ammonsulfat erhitzt, bis die Schwefelsäure zu verdampfen anfängt. Nach Spica[2]) lassen sich auch noch 0,002 % Kaliumjodat im Jodkalium an der Schwerlöslichkeit des Baryumjodats erkennen. Da die Jodkaliumlösung durch Wägen des Jodkaliums bereitet wird, darf das Salz auch kein Chlor enthalten. Um Chlor nachzuweisen, fällt man die Lösung mit Silbernitrat aus, schüttelt mit überschüssigem Ammoniak und filtriert; bei Anwesenheit von Chlor gibt das Filtrat beim Übersättigen mit Salpetersäure einen flockigen Niederschlag (von Chlorsilber). Chlorfreie Salpetersäure verschafft man sich leicht dadurch, dass man gewöhnliche Salpetersäure mit Silbernitratlösung vermischt und den entstandenen amorphen Niederschlag sich absetzen lässt.

2. Saure Palladiumchlorürlösung. Man löst ein abgewogenes Stück Palladium in Königswasser, dampft im Wasserbad zur Trockne eine und setzt auf 1 g Metall 50 ccm Salzsäure zu. Man verdünnt dann die Lösung für 1 g Metall auf ungefähr 8 Liter, so dass von der richtig gestellten Lösung 1 ccm 0,25 mg Jod anzeigt. Den wahren Gehalt der Lösung ermittelt man durch Titrieren der Jodkaliumlösung und erteilt nach dem Befund der Lösung die richtige Konzentration. Es werden in einem 100 ccm fassenden Kölbchen 10 ccm der Palladiumlösung zum Sieden erhitzt. Dann lässt man aus einer Bürette die Jodkaliumlösung nach und nach zufliessen, schüttelt stark und erwärmt einige Sekunden. Von der in wenigen Augenblicken klar gewordenen Flüssigkeit giesst man eine geringe Menge in zwei kleine enge Proberöhrchen, so dass beide etwa 2—3 cm hoch gefüllt sind. Zu der einen Probe setzt man darauf noch einige Tropfen der Jodlösung und vergleicht nun mit der anderen, ob noch eine Bräunung eintritt oder nicht. Ist ersteres der Fall, so spült man die Proben wieder zur Hauptflüssigkeit, setzt weitere Jodlösung zu, schüttelt, erwärmt, prüft wieder auf die angegebene Art und fährt so fort, bis eine neue Menge Jod keine Färbung mehr erzeugt. Ist dieser Punkt

[1]) R. Kersting, Ann. d. Ch. u. Pharm. 87. 21. 1853.

[2]) Spica, Gaz. chim. 24. 91; Zeitschr. f. anal. Ch. 35. 343. 1896.

Digitized by Google

erreicht, so filtriert man etwas Flüssigkeit ab, und wenn diese weder durch Palladium noch durch Jodlösung merklich gebräunt wird, so kann sie kaum $^1/_{100000}$ Überschuss an einem dieser Stoffe enthalten.

C. Ausführung.

Das Abdestillieren des Jodwasserstoffes aus dem Harn nimmt man nach Hupperts und Pečirkas[1]) Erfahrungen am besten im folgender Weise vor.

Es werden 50 ccm Harn in einem Viertelliterkölbchen mit Natronlauge alkalisch gemacht und in dem schräg gelagerten Kölbchen auf $^1/_4$ eingekocht. Man befestigt dann das Kölbchen an einem Destillationsapparat, dessen Kühlrohr einen gläsernen Mantel hat, legt ein Masskölbchen von 100 ccm vor, erwärmt die Flüssigkeit schwach und lässt aus einem mit Glashahn oder Stopfen versehenen Trichterrohr langsam 20 ccm Schwefelsäure zufliessen. Die Flüssigkeit kommt dabei von selbst in ruhiges Sieden, und die Schwefelsäure verteilt sich gleichmässig in ihr. Setzt man die Schwefelsäure zu kaltem Harn, so sammelt sie sich am Boden an und die Flüssigkeit stösst beim nachfolgenden Erwärmen stark; ist der Harn zu heiss, so tritt beim Zufliessen der Schwefelsäure eine stürmische Reaktion ein. Man unterhält die Destillation, bis kleinblasiges ruhiges Sieden eintritt, d. i. bis zu dem Punkt, wo Schwefelsäure überzugehen beginnt. Anfangs destilliert metallisches Jod über, welches sich im Kühlrohr kondensiert. Dasselbe wird aber durch die nachfolgende schweflige Säure gelöst und aus dem Kühlrohr ausgewaschen; erst wenn der Harn mehr als 50 mg Jod in 50 ccm (2 g KJ in 1500 ccm) Harn enthält, bleibt Jod zurück, das sich aber leicht durch Nachgiessen einer Lösung von schwefligsaurem Salz in das Destillationsgefäss spülen liesse. — Der Destillationsapparat sollte ganz aus Glas bestehen, und das Destillationsrohr muss weit in das Kühlrohr hineinreichen; am besten wird man eine Retorte mit eingeschliffenem Trichterrohr verwenden, deren Schnabel eine lange Strecke dünn ausgezogen ist. In Ermangelung einer solchen stellt man die Dichtungen mit paraffiniertem Korkstöpsel oder mit Kautschukstopfen her, die durch Auskochen mit Soda entschwefelt worden sind. Korke tränkt man in der Weise mit Paraffin, dass man sie längere Zeit auf 100° erwärmt, noch heiss in das geschmolzene Paraffin taucht und abtropfen lässt.

Das Destillat enthält den Jodwasserstoff, die flüchtigen Säuren, Phenol, Schwefelsäure und schweflige Säure. Bevor die Jodbestimmung ausgeführt werden kann, muss die schweflige Säure oxydiert werden, weil sie Palladiumchlorür zu Metall reduziert. Dies geschieht durch tropfenweisen Zusatz von gesättigter Chlorkalklösung, von welcher aber auch ein Überschuss vermieden werden muss, weil das Palladiumchlorür von ihm oxydiert wird. Um das richtige Mass zu treffen versetzt man die Flüssigkeit mit etwas Stärkelösung und fügt Chlorkalk bis zum Eintritt einer dauernden, aber schwachen Blaufärbung zu. Ist dieser Punkt erreicht, so füllt man auf 100 ccm auf, giesst die filtrierte Flüssigkeit in eine Bürette und titriert mit ihr 10 ccm Palladiumlösung, wie bei der Titerstellung derselben. Aus dem Titer der Palladiumlösung und dem verbrauchten Volumen des Destillats berechnet man die Menge des vorhandenen Jods.

Die Destillation dauert lang und bedarf zur Verhütung des Übersteigens steter Überwachung. Hilger erhielt konstant zu geringe Werte, Zeller[2]) gleichfalls etwas zu niedere Werte, Pečirka fand statt 10 mg Jod 8,4—9,8 mg, statt 50 mg 46,0—48,8; die Verluste, welche Pečirka erlitt, dürften wenigstens zum Teil der nicht völlig zweckmässigen Einrichtung seines Destillationsapparates zuzuschreiben sein.

[1]) F. Pečirka, Zeitschr. f. physiol. Ch. 7. 491.

[2]) Hilger, Zeitschr. f. analyt. Ch. 12. 342. — Zeller, Zeitschr. f. physiol. Ch. 8. 286.

Digitized by Google

II. Verfahren von Hilger.

Hilger[1]) titriert den Harn direkt mit der Palladiumchlorürlösung. Es werden 10—20 ccm der Palladiumchlorürlösung, je nach dem Jodgehalt des Harns, der sich leicht durch eine qualitative Probe auf Jod annähernd feststellen lässt, in einem Glasgefäss mit eingeschliffenem Glasstöpsel im Wasserbade erhitzt und von dem jodhaltigen Harn, der zuvor mit Salzsäure angesäuert und auf ein bestimmtes Volumen gebracht war, so viel zugesetzt, bis sämtliches Palladium als Jodür ausgeschieden ist. Heftiges Schütteln der Mischung beschleunigt die Abscheidung sehr. Kleine Proben von Zeit zu Zeit abfiltriert und mit einigen Tropfen Harn versetzt, zeigen beim Erhitzen durch eine stattfindende Trübung oder durch Klarbleiben, ob die Reaktion beendigt ist oder nicht. Nach Hilgers Beobachtungen fällt das Ende der Reaktion mit dem Momente zusammen, bei welchem die Abscheidung des Jodpalladiums in deutlichen Flocken beginnt, während die Flüssigkeit in stetem Sieden erhalten wird.

Hilger erhielt nach seiner Methode sehr genaue Resultate, Zeller ungefähr ebenso genaue wie Hilger; Pečirka fand dagegen immer zu viel. Nach Pečirka ist die Quelle des Fehlers in der Färbung des Harns zu suchen; während man nämlich bei farblosen Flüssigkeiten das Ende der Reaktion daran erkennt, dass sich auf Zusatz der Jodlösung die Mischung nicht mehr färbt, gibt bei Verwendung von Harn nur das Entstehen einer deutlichen Trübung den Ausschlag; diese bleibt aber schon aus, wenn noch Färbung eintritt, man verbraucht deshalb zu wenig Harn und findet zu viel Jod. Auch hat Kersting bereits darauf aufmerksam gemacht, dass der Niederschlag, welchen jodhaltiger Harn mit Palladiumchlorür gibt, ausser Palladiumchlorür ein organisches Palladiumsalz und Palladiummetall enthält; Harnstoff gibt nach Drechsel eine sehr schwer lösliche Verbindung mit Palladiumchlorür. In Hundeharn geben die Thiosulfate mit Palladiumchlorür nach Zeller einen Niederschlag von Schwefelpalladium.

III. Verfahren von Pečirka.

Pečirka[2]) verascht den Harnrückstand durch Schmelzen mit Soda und Salpeter und titriert in der Lösung des Produkts das Jod nach Entfernung der salpetrigen Säure und der übrig gebliebenen Salpetersäure. Das Verfahren eignet sich auch zur Bestimmung des Jods namentlich dann, wenn es in anderer Form als der des Jodwasserstoffs, z. B. in organischer Verbindung, vorhanden ist.

Die salpetrige Säure würde für sich, die Salpetersäure unter Vermittelung der Chloride der Harnasche das Palladiumchlorür oxydieren. Die Salpetersäure wird in alkalischer Lösung durch Zink, die salpetrige Säure durch schweflige Säure reduziert. — Es werden 50 ccm Harn nach Zusatz von 0,5 g Salpeter und 5 ccm Normalsodalösung in einer Platinschale bei einer dem Siedepunkt nahen Temperatur zur Trockne verdunstet, der Rückstand sofort weiss gebrannt und die Asche in 5 ccm einer 10 %igen Natronlauge und der nötigen Menge Wasser gelöst. Nachdem man in die Lösung ein Zinkstäbchen gelegt hat, hält man sie eine Stunde lang warm, giesst sie in ein Kölbchen von 100 ccm, spült die Schale und den Zinkstab nach, versetzt die Flüssigkeit mit Stärkelösung und säuert sie mit verdünnter Schwefelsäure (1 : 4), besser mit Salzsäure an. Wird die Flüssigkeit dabei nur schwach blau, so kann sie sofort zum Titrieren verwendet werden, färbt sie sich aber stark blau oder grün oder braun, so wird sie durch tropfenweisen Zusatz einer Lösung von schwefligsaurem oder saurem schwefligsauren Natron entfärbt. Das dabei aus der salpetrigen Säure entstandene Stickoxyd wird durch einen ziemlich lebhaften Strom Kohlensäure ausgetrieben; es würde in Berührung mit Luft

[1]) Hilger, a. a. O. u. Ann. d. Ch. u. Pharm. **171**. 212; Zeitschr. f. analyt. Ch. **13**. 475.

[2]) Pečirka, a. a. O. 493.

Digitized by Google

wieder zu salpetriger Säure werden. Einen Überschuss von schwefliger Säure entfernt man durch tropfenweisen Zusatz von Chlorkalklösung. Die Flüssigkeit muss zuletzt schwach blau sein. Man füllt auf 100 ccm auf und titriert.

Pečirka fand statt 10 mg Jod in 100 ccm 9,84—10,0 mg, statt 50 mg in 100 ccm 48,5—49,2 mg Jod wieder.

IV. Verfahren von Harnack[1]).

Bestimmung des als Jodwasserstoff und in anderer Form im Harn enthaltenen Jods durch Wägen als Palladiumjodür.

Zur Bestimmung des Jodwasserstoffs (nach dem Gebrauch von Jodoform) hat Harnack den Harn mit Salzsäure versetzt, mit Palladiumchlorür ausgefällt, den Niederschlag am folgenden Tage abfiltriert, gewaschen und mit Soda geglüht. Der Glührückstand wurde mit heissem Wasser ausgezogen, die Lösung übersäuert und wieder mit Palladiumchlorür gefällt; zuletzt wurde dieser Niederschlag gewaschen, getrocknet und gewogen. Aus der gefundenen Menge Palladiumjodür PdJ_2 wird der Jodwasserstoff berechnet.

Die gesamte Jodmenge wurde so gefunden, dass der Harn nach Zusatz von Soda verdampft und der Rückstand geglüht wurde. Die entstandene Kohle wurde mit heissem Wasser ausgezogen und verascht. Alles wurde in salzsaure Lösung gebracht und wie vorhin mit Palladiumchlorür gefällt.

V. Verfahren von Wallace und Lamont[2]).

Das Verfahren wurde von Zeller[3]) zur Bestimmung von Jodwasserstoff neben organischen Jodverbindungen angewendet; es beruht auf der Trennung des Chlorsilbers vom Jodsilber durch Ammoniak.

Der Harn wird mit Salpetersäure angesäuert, ½ Stunde auf dem Wasserbad erwärmt, nach völligem Erkalten filtriert und so lange unter beständigem Umrühren mit salpetersaurem Silber versetzt, bis der entstehende Niederschlag nicht mehr gelb, sondern rein weiss ist, oder bis eine abfiltrierte Probe mit ammoniakalischer Silberlösung nicht mehr getrübt wird. Der Niederschlag wird abfiltriert, gewaschen und getrocknet, dann möglichst vollständig in ein Becherglas gebracht und mit der 15—20fachen Menge von starkem Ammoniak digeriert. Man filtriert den Niederschlag durch dasselbe Filter, wäscht ihn erst mit verdünntem Ammoniak, dann mit Wasser. Die Filtration wird leicht dadurch verzögert, dass das Filtrat durch fein verteiltes Jodsilber getrübt ist, das sich erst nach 1—2 Tagen absetzt. Der Niederschlag enthält neben Jodsilber noch Chlorsilber, und das Filtrat enthält etwas Jodsilber gelöst. Den wahren Gehalt des Niederschlags an Jodsilber erfährt man durch Behandeln des Niederschlags mit Chlor[4]) und rechnet das gelöste Jodsilber hinzu; 2493 ccm Ammoniak von 0,85 Dichte lösen 1 g Jodsilber.

VI. Verfahren von Sandlund[5]).

Sandlund fällt den Jodwasserstoff mit Silbernitrat, reduziert den Niederschlag mit Zinkstaub, oxydiert den gebildeten Jodwasserstoff nach Duflos mit Eisenchlorid und titriert das abdestillierte Jod mit Thiosulfat.

---

[1]) E. Harnack, Berl. klin. Wochenschr. **22**. 98. 1885.

[2]) Wallace und Lamont: Fresenius, Anleitung zur quantitativen Analyse, 6. Aufl. **1**. 660.

[3]) Zeller, a. a. O. 288.

[4]) Fresenius, a. a. O. 659.

[5]) H. Sandlund, Arch. d. Pharm. **232**. 177. 1893; Zeitschr. f. anal. Chem. **34**. 124.

Digitized by Google

Von nicht zu jodarmem Harn werden 25—50 ccm mit Salpetersäure stark angesäuert und mit Silbernitrat ausgefällt. Nach halbstündiger Digestion auf dem Wasserbade wird der Niederschlag säurefrei gewaschen und samt dem Filter in einem 100—200 ccm fassenden schräg liegenden Kolben mit 8 ccm Wasser, 4 ccm Salzsäure von 1,12 Dichte und 2 g Zinkstaub behandelt. Nach Vollendung der Reduktion wird heiss in einen Kolben von 100 ccm filtriert, mit 35—40 ccm Wasser nachgewaschen, das Filtrat nach Zusatz von 3—4 g krystallisiertem Eisenchlorid der Destillation unterworfen und das Destillat in kalt gehaltener Jodkaliumlösung aufgefangen. Wenn etwa zwei Drittel der Flüssigkeit übergegangen sind, wird das Jod im Destillat mit $^1/_{50}$ oder $^1/_{100}$ n-Thiosulfat titriert.

Um die störende Beimengung von Harnsäure zu vermeiden, ist das Ansäuern des Harns und das Fällen mit der Silberlösung an demselben Tage auszuführen. Das Eisenchlorid oxydiert nur den Jodwasserstoff, nicht auch den Chlorwasserstoff und den Bromwasserstoff. Die Verbindung des Kolbens mit dem Trichter ist durch Schliffe (mindestens durch paraffinierte Korke oder auch Kautschukstöpsel) herzustellen. Die Destillation muss überwacht werden, damit die Flüssigkeit (anfangs) nicht überschäumt und die Jodkaliumlösung nicht zurücksteigt.

Bei geringerem Jodgehalt wird der Harn mit 1 g Natriumcarbonat (wasserfrei) auf 100 ccm in einer Platinschale vorsichtig verascht, die Lösung der Asche im Destillierkolben mit Salzsäure angesäuert, zur Vertreibung der Kohlensäure gelinde erwärmt und dann mit Eisenchlorid destilliert. Die Asche darf keine Reste organischer Substanz enthalten, da die Resultate sonst zu hoch ausfallen. Es ist daher besser, erst bloss zu verkohlen, die Kohle mit Wasser auszuziehen und den Rest zu verbrennen.

Nach Villiers und Fayolle[1]) lässt sich bei diesem Verfahren das Jod durch die Destillation nicht gut vollständig gewinnen.

VII. Verfahren von Nicolle[2]).

Nicolle setzt das Jod in der Harnasche mit Kaliumdichromat in Freiheit, destilliert es in eine Jodkaliumlösung und titriert es mit Thiosulfat.

Es werden 50 ccm Harn mit 2 g Kaliumhydrat bei Rotglut verascht, man zieht die Asche mit heissem Wasser aus, neutralisiert das Filtrat mit Schwefelsäure und destilliert nach Zusatz von (20 g) Kaliumdichromat. Die zum Auffangen des Jods dienende Jodkaliumlösung ist 4 %ig. Dichtung des Destillationsapparates wie unter I (Kersting). Bei der Veraschung können Sulfide entstehen und der dann bei der Destillation auftretende Schwefelwasserstoff würde zu einem falschen Resultate führen. Zur Beseitigung dieses Fehlers soll man die Sulfate mit Chlorbaryum ausfällen (wobei jedoch die gepaarte Schwefelsäure und andere Schwefelverbindungen in Lösung bleiben) oder den Schwefelwasserstoff aus der Lösung der Asche durch Erwärmen mit Oxalsäure austreiben. — Der Destillationsrückstand lässt sich noch zur Bestimmung in ihm enthaltenen Broms verwenden.

VIII. Verfahren von Nencki u. Schoumow-Simanowsky[3]).

Anwendung des Verfahrens von Cook[4]) zur Bestimmung des Jods in Jodiden auf den Harn.

[1]) A. Villiers und M. Fayolle, Comptes rendus 118. 1332; Bull. de la Soc. chim. [3]. 11. 544. 1894; Zeitschr. f. anal. Ch. 34. 600.

[2]) A. Nicolle, Journ. de pharm. et de chim. [5]. 28. 298; Chem. Zentralbl. 1893. 2. 1032.

[3]) M. Nencki und E. O. Schoumow - Simanowsky, Arch. des sc. biolog. 3. 197; Arch. f. exp. Path. 34. 319. 1894.

[4]) E. H. Cook, Journ. of the chem. Soc. 47. 471; Zeitschr. f. anal. Ch. 34. 601. 1895.

Digitized by Google

Die (unter Zusatz von Soda wie bei VI. dargestellte) Harnasche wird mit überschüssiger Essigsäure und Wasserstoffsuperoxyd behandelt. Nach einstündigem Stehen ist alles Jod frei geworden. Man zieht mit Chloroform aus, wäscht dieses mit Wasser, das absolut frei ist von Wasserstoffsuperoxyd und titriert mit Thiosulfat. Chloride und Bromide werden bei diesem Verfahren nicht zersetzt. In der rückständigen Flüssigkeit lässt sich das Chlor bestimmen, wenn das angewandte Wasserstoffsuperoxyd chlorfrei war, was jedoch bei dem käuflichen oft nicht der Fall ist. Demselben Zwecke dient auch Natriumsuperoxyd, welches man chlorfrei von de Haen in List bei Hannover erhalten kann.

IX Verfahren von Vielliers u. Fayolle.

Aus dem in Wasser gelösten Jodid wird das Jod nach Duflos durch Eisenchlorid in Freiheit gesetzt, in Schwefelkohlenstoff aufgenommen und mit Thiosulfat unter Schütteln in einer verschlossenen Flasche titriert.

Es ist die Harnasche in neutraler oder saurer Lösung zu verwenden, Salpetersäure darf nicht zugegen sein. Auf 0,1 g Jod reichen 5 ccm einer halb normalen Eisenchloridlösung aus. Ein viermaliges Behandeln der Lösung mit Schwefelkohlenstoff genügt zur vollständigen Entziehung des Jods.

X. Verfahren von Jolles[1]).

Der mit Salpetersäure angesäuerte wässerige Auszug des verkohlten Harns wird mit Silbernitrat gefällt und in dem Niederschlag das Jod durch Überleiten von Chlor in bekannter Weise bestimmt (Fresenius, Quantitat. Analyse, 6. Aufl. **1.** 659).

XI. Colorimetrisches Verfahren von Struve.

Struve[2]) stellt sich aus Jodkaliumlösung von bekanntem Gehalt, rauchender Salpetersäure und einem stets gleichen Volumen Schwefelkohlenstoff Lösungen von Jod in Schwefelkohlenstoff von verschiedenem, aber bekanntem Gehalt und verschiedener Färbung her und vergleicht mit diesen Normallösungen die Jodlösungen, welche in ganz derselben Weise aus Harn gewonnen werden. Die zylindrischen Gläser, in welchen die Färbungsintensitäten verglichen werden, müssen dieselbe Weite besitzen. Die Normallösungen lassen sich, unter Wasser, einschmelzen und aufbewahren.

Das Struvesche Verfahren, von Kellermann angewandt, ist von A. Heffter mit Recht ablehnend kritisiert worden. Auch nach meinen unveröffentlichten Versuchen muss man zur Bestimmung der Ausscheidung des gesamten Jods die Veraschung (in der folgenden von Heffter-Anten herrührenden Form) vornehmen.

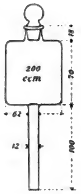


Fig. 47.

XII. Nach H. Anten[3]).

Eine abgemessene Menge Harn (z. B. 20 ccm) bringt man in eine geräumige Nickelschale, fügt 2 g (bei mehr Harn entsprechend grössere Quantitäten) jodfreies Kalihydrat hinzu und erwärmt bei kleiner Flamme, bis das Wasser verdampft ist. Dann wird stärker erhitzt und verkohlt. Durch Zusatz von 1,5 g jodfreiem Salpeter auf 20 ccm Harn brennt

[1]) Ad. F. Jolles, Zeitschr. f. anal. Ch. **30.** 290. 1891.
[2]) H. Struve, Journ. f. prakt. Ch. **105.** 429; Zeitschr. f. analyt. Ch. **8.** 230.
[3]) Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **48.** 331. 1902.

Digitized by Google

man die Kohle weiss, wobei die Temperatur möglichst niedrig gehalten wird, und löst die Schmelze nach dem Erkalten in wenig Wasser. Die Lösung wird durch ein kleines Filter filtriert, Schale und Filter sorgfältig nachgewaschen. Das Filtrat, das bei richtig geleiteter Veraschung farblos sein muss, sammelt man in einer der besonders für diesen Zweck konstruierten Schüttelflaschen, wie sie auch Howald für die Jodbestimmung im Harn benützte. Das sind weite zylindrische, etwa 200 ccm fassende Gefässe mit ganz kurzem Hals und eingeschliffenem Glasstopfen, die unten in ein 10 ccm langes, etwa 12 mm weites Rohr mit flachem Boden endigen. Der Durchmesser dieses Rohres muss bei den beiden Schüttelgefässen, die man zur Bestimmung nötig hat, gleich sein. Zu dem Filtrat setzt man vorsichtig, um Überschäumen zu verhüten, verdünnte Schwefelsäure im Überschuss, sodann mit der Pipette 10 ccm Schwefelkohlenstoff und schüttelt gut durch. Der durch die Jodaufnahme violett gefärbte Schwefelkohlenstoff sinkt nachher in die Röhre und füllt sie fast vollständig an. In das andere ebenso geformte Schüttelgefäss bringt man eine der Menge des Harnaschenfiltrates entsprechende Quantität einer gesättigten Natriumsulfatlösung, ferner je 10 Tropfen verdünnter Schwefelsäure und einer einprozentigen Natriumnitritlösung, sowie ebenfalls 10 ccm Schwefelkohlenstoff. Zu dieser Mischung lässt man aus einer Bürette eine Kaliumjodidlösung, die genau 0,2 g auf ein Liter enthält, tropfenweise unter starkem Schütteln so lange zufliessen, bis die Färbung des Schwefelkohlenstoffes derjenigen im anderen Schüttelgefäss gleich ist. Durch Ablesen der verbrauchten Kubikzentimeter der Kaliumjodidlösung erfährt man die Menge des in der untersuchten Harnmenge enthaltenen Kaliumjodids resp. Jods (1 ccm = 0,00015 Jod). Da die Farbenunterschiede nur dann hinreichend sind, wenn der Schwefelkohlenstoff nicht zu dunkel gefärbt ist, d. h. wenn der vorhandene Jodgehalt zwischen 0,5—1,5 mg beträgt, so muss man danach die anzuwendende Urinmenge bemessen.

4. Bromwasserstoff.

Verabreichtes Brom erscheint langsam und in kleinen Mengen im Harn; nach einer täglichen Gabe von 2—6 g Bromnatrium bestimmten Nencki und Schoumow-Simanowsky[1]) in der Tagesmenge Harn 1—27 mg Bromwasserstoff. Ein grosser Hund, der 14 Tage lang täglich Bromnatrium erhielt, schied noch 4 Monate nach der letzten Gabe Brom aus, zuletzt nicht jeden Tag, regelmässig aber ungefähr 6 Wochen lang.

[1]) Nencki und Schoumow-Simanowsky, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **34**. 320. 1894. — E. Berglund, Zeitschr. f. anal. Ch. **24**. 184. 1885.

Brom wird sehr erheblich im Organismus retiniert ($^2/_3$—$^3/_4$), seine Ausscheidung hängt von der Diurese und dem Chlorgehalt des Blutes ab, so dass bei Kochsalzzufuhr die Bromausscheidung steigt.

Den Harn direkt durch Zusatz von Chlorwasser und Ausschütteln mit Schwefelkohlenstoff zu prüfen, ist nach Rabuteau unzweckmässig, weil nur bei Gegenwart sehr grosser Mengen von Bromid eine Färbung des Schwefelkohlenstoffs eintritt. Man muss vielmehr den Harnrückstand vollständig, aber vorsichtig, verkohlen. Die Kohle zieht man mit Wasser aus, setzt in dem farblosen Filtrat das vorhandene Brom durch einen Tropfen Chlorwasser in Freiheit und schüttelt mit Äther oder Schwefelkohlenstoff in bekannter Weise.

Zum Nachweis des Broms benützen A. Jolles[1]) und v. Wyss folgende Reaktion: Eine Spur Paradimethylphenylendiamin wird in etwa 50 ccm Wasser gelöst, mit 2 ccm Natronlauge und so viel Essigsäure versetzt, dass die eintretende Rotfärbung maximal wird; von dieser Lösung werden einige Kubikzentimeter mit Wasser bis zur Farblosigkeit verdünnt und mit dem Harn versetzt; oder besser man setzt zur Harnaschenlösung etwas Kaliumbichromat und verdünnte Schwefelsäure, erwärmt auf dem Wasserbade und leitet die entweichenden Dämpfe in die Reagenzlösung, die sich bei Anwesenheit von Brom tiefrot färbt. Man kann nach Jolles auch Reagenzpapier anwenden, dass mit einer 1‰igen Lösung von salzsaurem p-Dimethylphenylendiamin getränkt ist. Jodide geben dieselbe Reaktion.

Bestimmung des Bromwasserstoffs.

I. Nach Berglund.

Nencki u. Schoumow-Simanowsky bedienen sich dazu des Verfahrens von Berglund, nach welchem aus einer Mischung von Bromid und Chlorid durch saures Kaliumsulfat und Permanganat unter bestimmten Bedingungen nur das Brom frei wird.

Die Bestimmung wird mit der Harnasche in neutraler Lösung ausgeführt. Die Flüssigkeitsmenge soll nach Berglund 50 ccm nicht übersteigen und ihre Konzentration (Gehalt an Brom) höchstens 2 % betragen. Die Lösung wird in einem Kölbchen mit 15—25 ccm einer 10 %igen Kaliumpyrosulfatlösung versetzt, die keine freie Säure enthalten darf; ist man dessen nicht sicher, so neutralisiert man $^1/_5$ der Lösung mit kohlensaurem Natron und mischt darnach die übrigen $^4/_5$ dazu. Die 2 %ige Permanganatlösung befindet sich in einem Gefäss mit Stöpsel, in dessen einer Bohrung sich ein Glasrohr bis auf den Boden verschieben lässt; die Lösung wird in einzelnen Anteilen, je nachdem sie verbraucht

[1]) H. v. Wyss, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **55**. 260. 1906. — T. Hondo, Berl. klin. Wochenschr. 1901. 205. — A. Ellinger und Y. Kotake, Med. Klin. 1910, Nr. 38. — E. Frey, Zeitschr. f. exp. Path. u. Ther. 8. 1. 1910. — A. Jolles, Zeitschr. f. anal. Ch. **37**. 439. 1898.

Digitized by Google

wird, durch einen Gasstrom in die Bromidlösung hinunter gedrückt. Das Brom wird durch einen langsamen Luft- oder Kohlensäurestrom ausgetrieben. Die Absorption des Broms erfolgt in einem Will-Varrentrappschen Apparat, wie er bei den Stickstoffbestimmungen mit Natronkalk gebraucht wurde, nach Nencki und Schoumow-Simanowski[1]) in einer Jodkaliumlösung. Dem Will-Varrentrappschen Apparat wird noch ein Rohr mit Jodkaliumlösung angefügt, damit man erfährt, ob alles Brom absorbiert wird. Um zu erkennen, ob alles Brom ausgetrieben ist, wechselt man die Vorlage. Das frei gewordene Jod wird mit Thiosulfat titriert. Nach Berglund ist ein 1—1½stündiges Durchleiten des Gases erforderlich.

II. Nach Nicolle[2]).

Die wässerige Lösung wird mit Chromsäure behandelt, das frei gewordene Brom in Jodkaliumlösung destilliert und mit Thiosulfat titriert.

Verfahren wie bei der Bestimmung des Jods, siehe Seite 1449, nur wird hier die Lösung der Harnasche, welche im ganzen 40 ccm betragen soll, zur Destillation mit 10 ccm Schwefelsäure und 20 g Kaliumdichromat versetzt.

III. Nach Caigniet[3]).

Caigniet bestimmt das Brom im wässerigen Auszug des verkohlten Harns mit einer titrierten Lösung von unterchlorigsaurem Natron.

Man soll das Verkohlen so lange fortsetzen, bis der wässerige Auszug farblos ist. Das Filtrat säuert man mit Zitronensäure an und setzt die Chlornatronlösung aus einer Bürette vorsichtig zu. Das frei gewordene Brom nimmt man mit Schwefelkohlenstoff auf und erneuert diesen von Zeit zu Zeit. Man hat so immer eine farblose Flüssigkeit und es ist leicht der Punkt zu treffen, wo ein weiterer Tropfen der Lösung des unterchlorigsauren Salzes keine Färbung der Flüssigkeit und des Schwefelkohlenstoffs mehr bewirkt, womit das Ende des Versuchs angezeigt ist.

IV. Indirektes Verfahren.

Das Verfahren beruht darauf, dass man zunächst die Summe von Brom und Chlor in Form ihrer Silbersalze bestimmt und dann durch Erhitzen im Chlorstrom das Bromsilber in Chlorsilber überführt[4]).

Man verascht den Harn wie bei der Jodbestimmung nach Anten (s. S. 1449), säuert mit verdünnter chlorfreier Salpetersäure ein wenig an und fällt in der Kälte mit Silbernitrat in geringem Überschuss, erhitzt unter beständigem Umrühren zum Sieden, filtriert nach dem Erkalten durch ein ca. 15 cm langes Asbestfilterrohr von schwer schmelzbarem Glas, trocknet bei 150° im Luftstrom und wägt nach dem Erkalten (Gewicht = p). Dann leitet man durch die etwas schräg eingespannte Röhre, nachdem der Asbestpfropf mittelst eines Glasstabes in der Röhre etwas vorgeschoben wurde, einen trockenen Chlorstrom und erhitzt die

[1]) M. Nencki und E. O. Schoumow-Simanowsky, Arch. des sc. biol. 3. 197; Arch. f. exp. Path. 34. 320. 1894.

[2]) A. Nicolle, Journ. de pharm. et de chimie [5]. 28. 298; Chem. Zentralbl. 1893. 2. 1032.

[3]) Caigniet, Journ. de pharm. et de chimie, Juillet 1869. 29; Zeitschr. f. anal. Ch. 9. 427.

[4]) S. Trecadwell, Lehrb. d. anal. Ch. 2. 246. 1907.

Digitized by Google

Röhre zunächst sehr vorsichtig, dann etwa ½ Stunde lang stärker. Zum Schluss wird der Niederschlag eben zum Schmelzen gebracht, das Chlor durch Luft verdrängt und neuerdings gewogen (Gewicht = q). Das Bromsilber ist = 4.2213 (p — q).

Ist nur wenig Brom vorhanden, so kann man die Bromide konzentrieren, indem man die nicht angesäuerte eingedampfte Lösung der Schmelze wiederholt mit 90%igem Alkohol extrahiert, den filtrierten alkoholischen Auszug eindampft und erst dann in der mit Salpetersäure angesäuerten wässerigen Lösung die Fällung wie oben vornimmt (nach A. Heffter).

5. Bromsäure

lässt sich nach Rabuteau[1]) noch in sehr geringen Spuren nach demselben Verfahren nachweisen wie die Chlorsäure.

6. Borsäure.

A. Vorkommen. Die Säure tritt schnell und mit grosser Regelmässigkeit in den Harn über[2]), 50% erscheinen in den ersten 12 Stunden, der Rest innerhalt 3—4 Tagen, so dass es bei wiederholter Verabreichung zu einer Anhäufung im Körper kommen kann.

B. Eigenschaften. 1. Taucht man ein Stück Curcumapapier in eine wenigstens 0,01%ige Lösung von Borsäure, so färbt sich das Papier zunächst nicht, wird aber nach dem Eintrocknen rotbraun. Befeuchtet man das rotbraune Papier mit Lauge, so wird es blauschwarz. Andere Boratlösungen (z. B. borsäurehaltiger Harn), die mit Salzsäure versetzt sind, geben dieselbe Reaktion.

2. Versetzt man borsäurehaltige Lösungen mit Alkohol (am besten Methylalkohol) und konzentrierter Schwefelsäure, so bildet sich der Ester der Borsäure und man erhält beim Anzünden des Alkohols eine grüngesäumte Flamme.

$$H_3BO_3 + 3\,CH_3OH = B(OCH_3)_3 + 3\,H_2O.$$

3. Da die Borsäure merklich hydrolysiert ist, kann sie nicht direkt mit Phenolphthalein titriert werden, wohl aber nach Zusatz eines mehrwertigen Alkohols, z. B. Glycerin oder Mannit.

C. Erkennung. Die Reaktionen B. 1. und 2. können direkt auf den Harn angewandt werden.

D. Bestimmung. Die Reaktion B. 3. hat G. Sonntag[3]) in folgender Weise für die Harnuntersuchung nutzbar gemacht:

Die gegebene Menge Harn wird mit Natronlauge alkalisch gemacht, dann eingedampft; der Rückstand getrocknet und möglichst vollständig verascht. Die Asche wird mit heissem Wasser erschöpft und die Aschen-

[1]) Rabuteau, Gazette hebdomadaire 1868. 262.
[2]) L. Michaelis und Th. A. Maass, Biochem. Zeitschr. 5. 1. 1907.
[3]) E. Rost, Arch. intern. de pharmacodynamie 15. 291. 1905. — G. Sonntag, Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt 19. 110. 1902.

Digitized by Google

lösung nach dem Ansäuern mit Salzsäure zur Entfernung der Phosphate mit Eisenchlorid im Überschuss versetzt. Dann wird bis zum Sieden erhitzt, mit Natronlauge neutralisiert, schnell abgekühlt und auf ein bestimmtes Volumen (bei grösseren Harnmengen $^1/_2$—1 l, bei kleineren Mengen 200 ccm) aufgefüllt. Die Flüssigkeit wird nun sofort durch ein Faltenfilter abfiltriert. Ist sie phosphorsäurefrei, was jedesmal durch Ammoniummolybdänlösung geprüft wird, so können aliquote Teile (erforderlichenfalls nach Eindampfen auf geringeres Volumen) zur Borsäurebestimmung benutzt werden. Enthält die Flüssigkeit auch nur Spuren von Phosphorsäure, so wird ein aliquoter Teil (von $^1/_2$ bzw. 1 l: 450 bzw. 900 ccm) wieder alkalisch gemacht und bis auf etwa 100 ccm eingedampft, angesäuert, mit Eisenchlorid versetzt, neutralisiert, aufgekocht und nach dem Erkalten auf 200 oder 250 ccm aufgefüllt. Von der filtrierten phosphorsäurefreien Flüssigkeit werden dann für die Borsäurebestimmung 25 oder 50 ccm im Erlenmeyer-Kolben mit Salzsäure angesäuert, zur Vertreibung der Kohlensäure 10 Minuten lang am Steigrohr gekocht, dann abgekühlt und mit Methylorange als Indikator neutralisiert (man kann die phosphorsäurefreien Aschenauszüge auch nach dem von Jones angegebenen Verfahren mit Kaliumjodid und Kaliumjodat neutralisieren). Nach dem Auflösen von 4—5 g Mannit wird die Flüssigkeit mit Phenolphthalein versetzt und mit einer durch Baryt kohlensäurefrei gemachten Natronlauge bis zur deutlich rötlichgelben Färbung titriert. Der Wirkungswert der Natronlauge ist mit einer durch Auflösen von reiner, mehrfach umkrystallisierter Borsäure unter Zusatz von Natriumcarbonat hergestellten Lösung in derselben Weise zu bestimmen.

Digitized by Google

Zufällige Bestandteile.

II. Teil.

Organische Stoffe.

Von F. N. Schulz-Jena.

Äthylalkohol C_2H_5OH.

A. Vorkommen. Nach Einführung grösserer Mengen Alkohol gehen beim Menschen sowie auch bei Tieren kleine Mengen Alkohol in den Harn über.

Ältere Untersuchungen von Lallemand, Perrin und Duroy, Frerichs, Anstie, Thudichum, Smith, Parkes und Wollowicz, Subbotin, Dupré, A. Schmidt, Setschenow sind mit unzureichender Methodik ausgeführt. Nach Binz und Heubach werden von grossen Dosen Alkohol (18—327 ccm pro die) 0,0—2,9 %, im Mittel 1,115 % im Harn ausgeschieden. Bodländer fand für den Hund im Mittel 1,576 %, für den Menschen 1,17 % des eingegebenen Alkohols im Harn wieder. Strassmann fand etwas höhere Werte (0,73—2,43 %).

Atwater und Benedikt[1]) fanden bei einem Menschen, der innerhalb drei Tagen 290 ccm Alkohol genommen hatte, 1,5 % in Harn und Atemluft wieder.

Nach Bodländer steigt der Prozentsatz des ausgeschiedenen Alkohols mit der Menge des dargereichten.

Pringsheim untersuchte an Ratten den Einfluss der Gewöhnung. Er konnte keinen Unterschied inbezug auf die Ausscheidung von unverbrauchtem Alkohol durch Haut, Lungen und Harn feststellen. Bei Tieren (Kaninchen, Hunden) erscheint ein Teil des Alkohols an Glycuronsäure gepaart im Harn (Neubauer, Pringsheim[2]). Im Selbstversuch konnte Pringsheim auch nach

---

[1]) Lallemand, Perrin und Duroy, Du rôle de l'alcool et des anaesthésiques dans l'organisme. Paris 1860. — Frerichs, Handwörterbuch d. Physiol. **3**. 808. — Anstie, Stimulants and narcotics. London 1864. — Thudichum, Tenth rapport of the Medical officer of the privy council. 1868. 288. — E. Smith, Lancet 1861. — Parkes and Wollowicz, Proceed. of the royal Society. **18**. 362. 1870. — Subbotin, Zeitschr. f. Biol. **7**. 1871. — Dupré, Proceed. of royal. Soc. **20**. 268. 1872. — Aug. Schmidt, Zentralbl. d. med. Wissensch. 1875. Nr. 23. — Setschenow, Beitr. zu einer künft. Physiol. d. Alkoholvergiftung. St. Petersburg 1861. — C. Binz, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **6**. 287. 1877. — Heubach, ebenda **8**. 446. — Bodländer, Pflügers Arch. **32**. 398. 1883. — Strassmann, ebenda **49**. 315. 1891. — Atwater und Benedikt, Washington Bull. **69**. 1. 1898.

[2]) J. Pringsheim, Biochem. Zeitschr. **12**. 143. 1908. — O. Neubauer, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **46**. 133. 1901.

Digitized by Google

Einnahme von 120 ccm Alkohol pro die keine gepaarte Glycuronsäure nachweisen.

Völtz, Baudrexel und Dietrich[1]) untersuchten die Ausscheidung von Alkohol unter verschiedenen Bedingungen. Sie fanden eine beträchtliche Abhängigkeit der Ausscheidung von der gleichzeitig aufgenommenen Flüssigkeitsmenge, vom Füllungszustande des Magendarmkanals, sowie von der Muskeltätigkeit.

In Zuckerharnen kann Alkohol nachträglich durch Gärung entstehen.

B. Eigenschaften. 1. Wasserhelle Flüssigkeit, die bei —129⁰ dickflüssig wird, bei 78,4⁰ siedet. Alkohol ist sehr hygroskopisch, mischt sich mit Wasser unter Temperaturerhöhung und Kontraktion.

2. Alkohol löst Fette, Öl, Harze, überhaupt kohlenstoffreiche Körper.

3. Durch Oxydationsmittel wird der Alkohol in Aldehyd und Essigsäure übergeführt.

C. Nachweis. Man unterwirft zunächst den Harn der Destillation. Das erste Destillat wird mit etwas Natronlauge alkalisch gemacht und nochmals destilliert. Dieses zweite Destillat wird zur Anstellung von Reaktionen benutzt.

1. Man erwärmt die zu prüfende Flüssigkeit, setzt etwas Jod und dann Kalilauge bis zur Entfärbung hinzu. Beim Erkalten scheidet sich Jodoform (sechsseitige Tafeln) aus. Aceton, Aldehyd, Milchsäure geben dieselbe Reaktion. Methylalkohol und Äthyläther nicht (siehe bei Aceton, S. 243). Die Jodoformprobe auf Alkohol ist mit Vorsicht zu bewerten (Kostytschew[2])).

2. Schüttelt man verdünnten Alkohol anhaltend mit Benzoylchlorid und überschüssiger Natronlauge bis zur bleibenden alkalischen Reaktion, so bildet sich der Benzoesäureester, welcher am Geruch erkannt wird, während das überschüssige Benzoylchlorid geruchloses benzoesaures Salz liefert. Es lässt sich so noch 0,1% Alkohol nachweisen (Berthelot, Baumann[3])).

3. Man säuert mit reichlich Schwefelsäure an und setzt soviel verdünnte Kaliumbichromatlösung hinzu, dass die Flüssigkeit deutlich gelb erscheint. Beim Erwärmen tritt Grünfärbung auf infolge von Bildung von Chromoxydsulfat.

D. Quantitative Bestimmung. 1. Nach Pringsheim.

Man destilliert von einem abgemessenen Volum Harn bei zirka 100 mm Hg Druck und einer Temperatur von 50—55⁰ mindestens

[1]) W. Völtz und A. Baudrexel, Pflügers Arch. **138**. 85. 1911, sowie **142**. 47. 1911. — W. Völtz, W. Dietrich und A. Baudrexel, ebenda **145**. 210. 1912.

[2]) Kostytschew, Ber. deutsch. botan. Gesellsch. **25**. 188. 1907.

[3]) Berthelot, Comptes rendus. **73**. 496; Chem. Zentralbl. 1871. 584. — E. Baumann, Ber. d. chem. Gesellsch. **19**. 3218.

Digitized by Google

ein Drittel ab. Die alkoholhaltigen Wasserdämpfe werden durch einen 60 cm langen Kühler in ein ca. 20 cm hohes Reagierglas geleitet, das mit einem doppelt durchbohrten Stopfen verschlossen ist. Durch die eine Bohrung geht das Verbindungsrohr von dem Kühler; in der anderen Bohrung befindet sich das Verbindungsrohr zur Wasserstrahlpumpe, das zunächst durch einen 25 cm langen aufrechten Kühler führt und oberhalb des Kühlers eine durch einen Hahn verschliessbare Abzweigung trägt, durch die nach beendigter Destillation Luft hinzugelassen werden kann.

Nach beendigter Destillation wird das alkoholhaltige Destillat in einen Erlenmeyer-Kolben gegossen, in dem sich eine überschüssige Menge kalter n/20-Kaliumbichromatlösung befindet, der auf je 5 ccm 1 ccm konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt ist. Der Kolben wird nun zugekorkt und 1—$1^1/_2$ Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Nach dem Erkalten wird das überschüssige Kaliumbichromat mit einer n/20-Ferroammoniumsulfatlösung in 5%iger Schwefelsäure titriert. Die Farbe der Kaliumbichromatlösung geht aus dem ursprünglichen Gelbrot allmählich durch Gelbgrün in ein gesättigtes Grün über, das bei weiterem Zusatz mit einem Male einen bläulichen Farbenton annimmt. Von nun an wird die Eisenlösung tropfenweise zugesetzt und jedesmal eine Tüpfelprobe ausgeführt, indem ein Tropfen der Flüssigkeit mit einem Tropfen der zu titrierenden Flüssigkeit auf Filtrierpapier zusammengebracht wird. Die Titration ist beendet, wenn sich in der Berührungszone beider Tropfen ein blauer Ring von Berlinerblau zeigt.

1 ccm einer 1%igen Alkohollösung entspricht 0,226 ccm n/20-Kaliumbichromatlösung. Das Verfahren lehnt sich an die von Nicloux, Cotte und Atwater u. Benedikt[1]) gegebenen Vorschriften an.

2. Bestimmung der Expansionskraft mit dem Vaporimeter. Das Geisslersche Vaporimeter wurde von Binz und Heubach zur Bestimmung benutzt. Auf Einwände, die gegen dieses Verfahren gemacht wurden, hat Bodländer[2]) dasselbe nochmals geprüft und für Konzentrationen von über 0,05 % brauchbar gefunden. Für feinere Bestimmungen sei dasselbe zu ungenau.

3. Das Chromsäureverfahren nach Bodländer und Strassmann[3]). Der Alkohol wird mit Chromsäure und Schwefelsäure oxydiert. Die durch Bildung von Chromsesquioxyd auftretende Grünfärbung wird mit Teströhrchen, in denen Alkohollösungen bekannter Konzentration in der gleichen Weise behandelt wurden, verglichen. Zur Oxydation wurde eine Lösung von 1 g CrO_3 in 300 ccm konzentrierter Schwefelsäure benutzt.

---

[1]) M. Nicloux, Recherches expérim. sur l'élimination de l'alcool dans l'organisme 1. Paris 1906; Annales chim. appliq. 1. 445. — Cotte, Rép. Pharm. [3]. 9. 438. — Atwater und Benedikt, Washington Bull. 69. 1. 1898.

[2]) C. Binz, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 6. 287. 1877. — Heubach, ebenda 8. 446. — Bodländer, l. c.

[3]) Bodländer, l. c. — F. Strassmann, Pflügers Arch. 49. 315. 1891.

Digitized by Google

Methylalkohol CH_3OH.

A. Vorkommen. Nach Eingabe von Methylalkohol geht Methylalkohol in den Harn über.

Völtz und Dietrich fanden bei Hunden innerhalb 24 Stunden etwa 1,5 % der eingegebenen Menge im Harn, innerhalb 48 Stunden 2,8 %. Die Ausscheidung geht also langsam vor sich; da nach 48 Stunden sich im Kadaver noch etwa 36,8% der eingegebenen Menge vorfanden, dürfte die Ausscheidung durch den Harn erst nach etwa 3—4 Tagen zu Ende sein. Es ist dadurch die cumulierende Wirkung des Methylalkohols erklärt. Nach Pohl[1]) geht ein Teil des Methylalkohols als Ameisensäure in den Harn über.

B. Eigenschaften. 1. Wasserhelle Flüssigkeit, die bei —94,9° fest wird, bei 65—67° siedet. Mischt sich mit Wasser unter Kontraktion.

2. Methylalkohol löst Fette, Öle, Harze.

3. Durch Oxydation entstehen Formaldehyd, Methylal, Ameisensäure.

C. Nachweis. Der Nachweis beruht fast immer auf dem Nachweis der Oxydationsprodukte.

1. Man taucht in ca. 3 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit (Harndestillat) mehrmals eine oberflächlich oxydierte glühende Kupferspirale. Dann fügt man einen Tropfen 5%ige Resorcinlösung hinzu und unterschichtet vorsichtig mit konzentrierter Schwefelsäure. Eine rosenrote Zone an der Berührungsschichte zeigt Methylalkohol an. Ameisensäure, sekundärer und tertiärer Butylalkohol, Akrolein geben dieselbe Reaktion.

2. Wenn es sich um die Erkennung des Methylalkohol neben Äthylalkohol handelt, so kann man zunächst beide durch Eintauchen einer glühenden Kupferspirale zu Aldehyd oxydieren. Den Acetaldehyd zerstört man dann durch Wasserstoffsuperoxyd, das überschüssige Wasserstoffsuperoxyd durch Natriumthiosulfat. Den Formaldehyd kann man dann bei alkalischer Reaktion durch Phloroglucin nachweisen, indem eine allmählich wieder verschwindende Rotbraunfärbung eintritt.

3. Zum Nachweis von Methylalkohol neben Äthylalkohol dient auch das Verfahren von Denigès[2]). Unter gewissen Bedingungen entsteht bei Oxydation mit Permanganat aus Äthylalkohol nur Acetaldehyd, aus Methylalkohol nur Formaldehyd. Mit Fuchsindisulfit lassen sich Spuren von Formaldehyd neben viel Acetaldehyd nachweisen. 3 ccm einer wässerigen Lösung von Methylalkohol (Harndestillat) werden mit 0,1 ccm reinem Äthylalkohol und mit 2 ccm 2,5%iger Permanganatlösung und 0,2 ccm Schwefelsäure (spezifisches Gewicht 1,66) versetzt und durch-

[1]) W. Völtz und W. Dietrich, Biochem. Zeitschr. **40**. 15. 1912. — J. Pohl, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **31**. 281. 1893.

[2]) G. Deniges, C. r. de l'Academ. des sciences **150**. 529; ebenda **150**. 832. 1910.

Digitized by Google

mischt. Nach 2—3 Minuten wird durch 1 ccm 8%ige Oxalsäurelösung entfärbt, nachdem die Flüssigkeit madeiragelb geworden ist, mit 1 ccm Schwefelsäure (1,66 %) versetzt und geschüttelt. Sobald die Flüssigkeit farblos geworden ist, gibt man 5 ccm Fuchsindisulfitlösung (1 g Fuchsin wird in 1 Liter Wasser gelöst, 20 ccm Natriumbisulfitlösung (1,263 spezifisches Gewicht) hinzugegeben; nach eingetretener Entfärbung gibt man 20 ccm konz. HCl hinzu) hinzu. Nach einigen Minuten tritt eine charakteristische Violettfärbung auf, die um so intensiver ist, je mehr Methylalkohol zugegen war. Nach 15 Minuten ist das Maximum der Färbung im allgemeinen erreicht; bei 1%igem Methylalkohol ist die Färbung noch recht stark, bei 0,1% noch sichtbar. Durch vorheriges Fraktionieren der zu prüfenden Flüssigkeit kann man die Empfindlichkeit wesentlich erhöhen.

Die Gegenwart von Äthylalkohol wirkt bei dieser Reaktion sogar günstig, da sich intermediär Formolacetat bildet, das besonders leicht mit Fuchsindisulfitlösung reagiert.

Durch Vergleich mit Lösungen von bekanntem Gehalt an Methylalkohol lässt sich eine kolorimetrische Bestimmung mit hinreichender Genauigkeit ausführen. Simmonds hat dieses Verfahren mit Erfolg benutzt[1]).

D. Bestimmung. Zur quantitativen Bestimmung, falls man sich nicht mit der kolorimetrischen Schätzung nach Denigès begnügen will, kann man sich des Verfahrens von Nicloux bedienen, wie das Völtz[2]) und seine Mitarbeiter tatsächlich getan haben. Man kann auch die von Pringsheim angegebene Modifikation (s. bei Äthylalkohol) benutzen. Bedingung für die Anwendbarkeit dieser Verfahren ist die Abwesenheit von Äthylalkohol.

Chloroform $CHCl_3$.

A. Vorkommen. Chloroform geht nach Narkose bei Hunden in kleinen Mengen in den Harn über. Pohl fand in 10 ccm Harn, welche ein Hund in den nächsten 4 Stunden nach einer $^1/_2$stündigen Narkose entleerte, 0,39 mg Chloroform. Nicloux fand ebenfalls beim Hund 6—8 mg in 100 ccm. Die Untersuchungen beim Menschen waren meist negativ (Kast). Dagegen kommt beim Menschen eine nicht von Chloroform herrührende Reduktion nicht selten zur Beobachtung, gelegentlich auch Linksdrehung. Worauf das beruht, ist nicht aufge-

[1]) C. Simmonds, The Analyst 37. 16. 1912.
[2]) W. Völtz und W. Dietrich, Biochem. Zeitschr. 40. 15. 1912.

Digitized by Google

klärt. Ein Teil des Chloroform wird sicher zersetzt und vermehrt die Harnchloride (Kast, Zeller[1])).

B. Eigenschaften. Chloroform ist eine ätherisch riechende, süsslich schmeckende Flüssigkeit, deren Dämpfe betäubend wirken. Siedepunkt 61,2° bei 760 mm Hg-Druck. 1000 ccm Wasser von 22° lösen 4,2 ccm Chloroform.

C. Nachweis.

1. Chloroformhaltiger Harn reduziert Fehlingsche Lösung beim Kochen (siehe auch vorher).

2. Nach Thiem und Fischer[2]) gibt Chloroformharn direkt die Isonitrilreaktion (siehe unten).

3. Zur weiteren Untersuchung benutzt man das Harndestillat oder das aus diesem kondensierte Chloroform.

Um dieses zu erhalten, leiten Vitali und Tornani durch den auf 50° erwärmten Harn Kohlensäure und den entweichenden Dampf in eine mit Eis und Salz gekühlte Vorlage. In der kondensierten Flüssigkeit etwa enthaltenes Chloral wird dadurch beseitigt, dass die Flüssigkeit (mit einem Wasserstoffstrom) wieder verflüchtigt und das Gas durch konzentrierte Schwefelsäure geleitet wird, welche das Chloral zurückhält. Zu den Reaktionen kann man sofort diesen zweiten Dampfstrom benutzen. Da aber Chloralhydrat als solches höchstens in Spuren in den Harn übergeht, wird man sich das Waschen mit Schwefelsäure in der Regel ersparen können.

a) Das Harndestillat reduziert Fehlingsche Flüssigkeit und ammoniakalische Silberlösung, während mit Aceton diese Reaktionen nicht eintreten.

b) Es gibt nach Vitali und Tornani sowie nach Toth[3]) auch die Isonitrilreaktion von Hofmann: man fügt das Destillat oder den Chloroformdampf zu einer Lösung von Anilin und Kaliumhydrat in Alkohol; beim Erwärmen tritt der sehr unangenehme Geruch nach Phenylisonitril auf; statt Anilin kann man jedes andere Monamin verwenden. Chloral sowie Jodoform geben diese Reaktion gleichfalls.

c) Chloroformdampf färbt eine feste Mischung von Phenol oder Thymol und Kaliumhydrat, besonders beim Erwärmen, carminrot oder violett.

d) Mischt man das Destillat mit einer gelinde erwärmten Lösung von α- oder β-Naphtol in Kalilauge zusammen, oder lässt man den Chloroformdampf in eine solche Lösung einströmen, so tritt nach Lustgarten eine vorübergehende Blaufärbung der Flüssigkeit ein; nach Neudörfer und Kratschmer[4]) wird die Reaktion noch mit 0,7 mg Chloroform erhalten, mit weniger nicht mehr. Unter gleichen Bedingungen gibt Chloroform mit Thymol eine dunkelviolette, mit Resorcin eine gelbrote Färbung. Chloral gibt diese Reaktionen auch.

e) Leitet man Chloroformdampf mit Luft und Wasserdampf durch ein rotglühendes Porzellanrohr, so tritt das Chlor des Chloroforms teils als solches, teils als Chlorwasserstoff auf und das gasförmige Produkt fällt Silberlösung. Bei Mangel an Sauerstoff kann sich aber nach Berthelot[5]) auch aus anderen flüchtigen Sub-

[1]) J. Pohl, Arch. f. exp. Path. **28**. 252. 1891. — M. Nicloux, Journ. de Pharm. et de Chim. [6]. **24**. 64. 1906. — A. Kast, Berl. klin. Wochenschr. 1888 Nr. 19. 377; Zeitschr. f. physiol. Chem. **11**. 277. 1887; **12**. 267. 1888. — A. Zeller, ebenda, **8**. 70. 1883.

[2]) C. Thiem und P. Fischer, Deutsche Medizinalztg. 26. 1889; Chem. Zentralbl. **1**. 409. 1890.

[3]) Vitali und Tornani, Jahresber. f. Tierch. 1885. 89. — L. Toth, Jahresber. f. Tierch. 1887. 73.

[4]) S. Lustgarten, Monatsh. f. Ch. **3**. 722. 1882. — Neudörfer und Kratschmer, Zeitschr. f. Chir. **28**. 376. 1883.

[5]) Berthelot, Bull. de la soc. chim. [2]. **36**. 71. 1881.

Digitized by Google

stanzen Acetylen und bei Gegenwart von Ammoniak Blausäure bilden, welche beide Silberlösung fällen. Die Fällung durch Acetylen verhütet man durch starkes Ansäuern der Silberlösung. Die Blausäure lässt sich ausschliessen, wenn man das gasförmige Produkt erst in Wasser auffängt und dieses zur Entfernung der Blausäure einige Zeit kocht. Man kann das Ammoniak auch durch starkes Ansäuern des Harns zurückzuhalten versuchen. Nach Toth verfährt man so, dass man den Harn im Wasserbad auf 70° erwärmt und das Chloroform durch einen Luftstrom austreibt. Leitet man Chloroformdampf über glühenden gebrannten Kalk oder gebrannte Magnesia, so entstehen die Chloride dieser Metalle.

D. Bestimmung. Zur Bestimmung kann das Verfahren von Nicloux[1]) dienen. Dasselbe beruht darauf, dass Chloroform mit Kalilauge zersetzt wird und das entstehende KCl mit Silber titriert wird.

30 ccm Harn werden mit dem 5fachen Volum 80—95 %igem Alkohol versetzt, mit 0,25 g Weinsäure angesäuert. Man legt 10 ccm 95 %igen Alkohol vor und destilliert ⅓ des Volums der Flüssigkeit ab. 60 ccm des Destillates (alkoholische Chloroformlösung!) werden mit 10 ccm 10%iger alkoholischer Kalilauge 30—45 Minuten (bei mehr als 50 mg Chloroform 1 Stunde) am Rückflusskühler zum Sieden erwärmt. Es zersetzt sich das Chloroform quantitativ: $CHCl_3 + 4\,KOH = 3\,KCl + KHCO_3 + H_2O$. Man lässt erkalten, gibt 15 ccm Wasser hinzu, neutralisiert genau mit Schwefelsäure in Gegenwart von Phenophthalein und titriert mit einer Silberlösung, welche 8,535 g $AgNO_3$ im Liter enthält, unter Verwendung von Kaliumchromat als Indikator. 1 ccm dieser Silberlösung entspricht 2 mg Chloroform.

Jodoform.

Jodoform geht bei äusserlicher Anwendung nach Lustgarten nicht als solches in den Harn über, sondern nach Harnack und Gründler, sowie nach Quaedvlieg und nach Zeehuisen grösstenteils als Jodalkali, zum Teil auch als Jodsäure; bei Jodoformintoxikation kann nach Harnack das Jod zum grössten Teil in organischer Verbindung vorhanden sein, in der es nicht wie in Jodwasserstoff nachweisbar ist. Eine Vorschrift zum Nachweis des Jodoforms im Harn gibt Lustgarten[2]).

Chloralhydrat $CCl_3 . CH . (OH)_2$; $C_2H_3O_2Cl_3$.

Nach Gebrauch von Chloral (4—6 g) finden sich Spuren von Chloral im Harn (Vitali u. Tornani, Tomascewicz, Muskulus u. Mering). Die Hauptmasse wird als Urochloralsäure ausgeschieden, ein geringer Teil wird zersetzt und vermehrt die Chloride des Harns (Liebreich)[3]).

---

[1]) M. Nicloux, C. r. de l'Acad. des sciences **142**. 163. 1906. Compt. rend. soc. biolog. **60**. 93. 1906.

[2]) E. Harnack und J. Gründler, Berl. klin. Wochenschr. 1883. 723. — Harnack, a. a. O. 1882. 298. — Quaedvlieg, Jahresber. f. Tierch. 1887. 218. — H. Zeehuisen, Nederl. Tijdschr. voor Geneesk. 1893. 1. 524; Jahresber. f. Tierch. 1893. 90. — S. Lustgarten, Monatsh. f. Ch. **3**. 715; Zeitschr. f. analyt. Ch. **22**. 467.

[3]) Vitali und Tornani, Jahresber. f. Tierch. 1885. 89. — A. Tomascewicz, Pflügers Arch. **9**. 35. 1874. — J. v. Mering und Muskulus, Ber. d. chem. Gesellsch. **8**. 662. 1875. — O. Liebreich, Chloralhydrat, ein neues Hypnoticum und Anaestheticum. 3. Aufl. Berlin 1871. Berl. klin. Wochenschr. 1869. 325.

Digitized by Google

Zum Nachweis des Chlorals destilliert man dasselbe bei schwach sauerer Reaktion unter Zusatz von etwas Alkohol ab (Tiesenhausen)[1]. Das Chloral gibt mit Monaminen und Naphthol dieselben Reaktionen wie das Chloroform (s. dort). Vom Chloroform unterscheidet es sich dadurch, dass es sich mit Schwefelammonium rot färbt (Ogston). Mit Nesslers Reagens gibt es einen gelbroten, später gelbgrün werdenden Niederschlag.

Urochloralsäure $C_8H_{11}Cl_3O_7$.

$$CCl_3 \cdot CH_2 \cdot O \cdot CH - H \cdot COH - OH \cdot C \cdot H - H \cdot C - H \cdot COH - COOH$$
$$\diagdown________ O ________\diagup$$

A. Vorkommen. Nach Darreichung von Chloral wird die Hauptmenge zu Trichloräthylalkohol reduziert, der sich mit Glycuronsäure zu Urochloralsäure paart. Die Urochloralsäure wurde von Muskulus u. Mering entdeckt, als erste gepaarte Glycuronsäure. Sie ist von Muskulus u. Mering, Külz u. Thierfelder[2]) genauer untersucht.

B. Eigenschaften. Sie bildet farblose, seidenglänzende Krystallnadeln, die in Wasser und Alkohol leichtlöslich, in Äther schwerlöslich sind. Sie reduziert beim Kochen alkalische Kupferlösung, Silberlösung, Wismutlösung. Sie dreht links ($[\alpha]_D = -69{,}6^0$). Die ganz reine, aus absolutem Äther umkrystallisierte Säure schmilzt bei 142^0. Sie ist durch Bleiessig fällbar, dagegen wird sie aus Harn durch Bleizucker nicht gefällt.

C. Nachweis. Urochloralsäure enthaltender Harn dreht nach links; nach gewöhnlichem Gebrauch von Chloral beträgt nach Bornträger[3]) α_D ungefähr -1^0. Zur polarimetrischen Untersuchung kann man den Harn mit Bleizucker klären; etwa vorhandenen Zucker entfernt man durch Gärung. Solcher Harn reduziert Fehlingsche Flüssigkeit, gibt die Mooresche Zuckerprobe, verhält sich zu Indigschwefelsäure wie eine Zuckerlösung, gibt aber die Böttchersche Probe nicht.

In betreff der Darstellung und weiterer Eigenschaften siehe das zusammenfassende Kapitel über Glycuronsäure bzw. gepaarte Glycuronsäuren.

[1]) Tiesenhausen, Zeitschr. f. analyt. Chem. **25**. 606.

[2]) V. Mering und Muskulus, l. c. — E. Külz, Zeitschr. f. Biolog. **20**. 157. 1884; Pflügers Arch. **28**. 517. 1882. — H. Thierfelder und J. v. Mering, Zeitschr. f. physiol. Chem. **9**. 511. 1885. — H. Thierfelder, ebenda, **10**. 164. 1886.

[3]) A. Bornträger, Zeitschr. f. analyt. Chem. **20**. 314.

Digitized by Google

Sulfonal. Diäthylsulfondimethylmethan.

$$\begin{matrix} CH_3 & & SO_2C_2H_5 \\ & >C< & \\ CH_3 & & SO_2C_2H_5 \end{matrix}$$

A. Vorkommen. Sulfonal erscheint nach Baumann und Smith zum grossen Teil als eine leicht lösliche, sehr beständige Schwefelverbindung, die wahrscheinlich Äthylsulfonsäure ($C_2H_5SO_3H$) ist, im Harn. Ein kleiner Teil geht unverändert in den Harn über; die Menge des unverändert übergehenden Sulfonal steigt allmählich bei längerem Gebrauch (Goldstein). Morro[1]) fand bei 5 tägiger Einnahme von je 1 g am ersten Tage 2,7 mg, am fünften Tage 48,6 mg. Im ganzen gelangten etwa 5% zur Ausscheidung; drei Tage nach dem Aussetzen des Mittels ist dasselbe aus dem Körper verschwunden.

B. Eigenschaften. Dicke Prismen vom Schmelzpunkt 125 bis 126°. Löslich in 500 Teilen Wasser von 15°, in 15 Teilen siedendem Wasser, in 2 Teilen siedendem Alkohol, in 133 Teilen Äther von 15°. Es zersetzt sich nicht beim Kochen mit Natronlauge.

C. Nachweis. Der Harn reduziert nach Lafon bei längerem Kochen Fehlingsche Flüssigkeit, dreht aber nicht rechts. Es lässt sich nach Goldstein sowie nach Morro dem (eingedampften) Harn durch Äther entziehen; zur Reinigung kann man es nach Morro mit Natronlauge eindampfen, den Rückstand in Wasser lösen und die Lösung mit Ätheralkohol behandeln, welcher das Sulfonal aufnimmt. Die erhaltenen Krystalle sind kenntlich an ihrem Schwefelgehalt, sowie daran, dass sie beim Erhitzen mit Holzkohlenpulver (Schwarz), mit Gallussäure oder Pyrogallussäure (Ritsert) oder beim Schmelzen mit Cyankalium (Vulpius)[2]) Mercaptan entwickeln, was an seinem unangenehmen Geruch erkannt wird. Die Cyankaliumschmelze enthält Rhodankalium.

Nach Morro verfährt man zum Nachweis folgendermassen: Der Tagesharn wird auf 100 ccm eingeengt und dann sechsmal mit 2—3fachem Volum Äther ausgeschüttelt. Eventuell entstehende Emulsionen werden durch geringe Mengen Alkohol beseitigt. Die Ätherauszüge werden abdestilliert, der Rückstand auf dem Wasserbad getrocknet und in 15—20 ccm 10 %iger Natronlauge gelöst. Die Lösung wird verdampft. Der Rückstand wird mit 20—40 ccm warmem Wasser aufgenommen und dann diese Lösung wieder sechsmal mit Äther ausgeschüttelt. Die durch ein trockenes Filter filtrierten Ätherauszüge werden verdunstet. Es hinterbleibt Sulfonal mit geringen Mengen harzartiger Stoffe als Rückstand. Der Rückstand wird mit Äther gewaschen oder aus heissem Wasser umkrystallisiert. Im Rückstand wird das Sulfonal durch den Schmelzpunkt identifiziert.

---

[1]) E. Baumann, Jahresb. f. Tierch. 1889. 54. — Smith, Zeitschr. f. physiol Chem. 17. 1. 1893. — F. Goldstein, Deutsche med. Wochenschr. 1892. 43. W. Morro, Deutsche med. Wochenschr. 34. 1894.

[2]) Ph. Lafon, Comptes rendus 120. 933. 1895. — C. Schwarz, E. Ritsert, G. Vulpius, Zeitschr. f. anal. Ch. 27. 665.

Digitized by Google

Tetronal und Trional.

Tetronal und Trional unterscheiden sich vom Sulfonal durch den Schmelzpunkt.

Tetronal $\begin{matrix} C_2H_5 \\ C_2H_5 \end{matrix} > C < \begin{matrix} SO_2C_2H_5 \\ SO_2C_2H_5 \end{matrix}$ Schmelzpunkt 86—89°.

Trional $\begin{matrix} CH_3 \\ C_2H_5 \end{matrix} > C < \begin{matrix} SO_2C_2H_5 \\ SO_2C_2H_5 \end{matrix}$ Schmelzpunkt 76°.

Kakodylsäure $C_2H_7O_2As$; $(CH_3)_2 . As . O . OH$.

A. Vorkommen. Nach Darreichung von kakodylsaurem Natrium geht ein grosser Teil der Kakodylsäure unverändert in den Harn über. Ein Teil wird zu anorganischen Arsenverbindungen (Arsensäure, arsenige Säure) umgewandelt (Schmidt u. Chomse, Rabuteau, Heffter, Bloemendal[1])).

B. Eigenschaften. Geruchlose, schiefrhombische Säulen vom Schmelzpunkt 200°, die in Wasser sehr leicht löslich sind.

C. Nachweis. Durch phosphorige Säure wird die Kakodylsäure zu dem intensiv knoblauchartig, betäubend riechenden Kakodyloxyd $[(CH_3)_2As]_2O$ reduziert. Man versetzt 10—20 ccm Harn mit einigen Krystallen von phosphoriger Säure. Der Geruch nach Kakodyloxyd tritt fast momentan auf.

Für den Arsennachweis im Kakodylharn sind besondere Vorschriften erforderlich, da die Kakodylsäure weder durch Chlor und Brom noch durch rauchende Salpetersäure angegriffen wird. Man muss daher den getrockneten Harn mit Soda-Salpeter schmelzen und kann dann erst in der Schmelze das Arsen nachweisen (siehe bei Arsen).

Piperazin. Diäthylendiamin $C_4H_{10}N_2$.

$$HN < \begin{matrix} CH_2 - CH_2 \\ CH_2 - CH_2 \end{matrix} > NH$$

A. Vorkommen. Innerlich genommenes Piperazin zeigt eine grosse Beständigkeit. Nach einmaliger Eingabe von 3 g liess sich beim Menschen noch nach 6 Tagen Piperazin mit Sicherheit im Harn nach-

[1]) A. Schmidt und Chomse, Moleschotts Untersuchungen **6**. 122. 1860. — Rabuteau, Jahresber. f. Tierch. **12**. 96. 1882. — A. Heffter, Arch. f. exp. Pathol. **46**. 230. 1901. — W. H. Bloemendal, Arch. f. Pharm. **246**. 599. 1908.

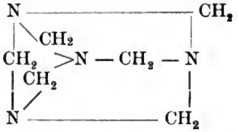
Digitized by Google

weisen. Der Hauptanteil wird aber schon nach wenigen Stunden ausgeschieden (Schmidt und Wichmann[1])).

B. Eigenschaften. Piperazin stellt grosse, rhombische Blätter (aus Alkohol) dar, mit dem Schmelzpunkt 104⁰, dem Siedepunkt 145⁰ bis 146⁰. Es ist sehr leicht löslich in Wasser. Piperazinlösungen besitzen ein beträchtliches Lösungsvermögen für Harnsäure.

C. Nachweis. Am besten eignet sich Jodkaliumjodwismutlösung. Der Harn wird mit einigen Tropfen Natronlauge von den Erdalkaliphosphaten befreit, mit Salzsäure schwach angesäuert, auf ca. 40⁰ erwärmt und mit Jodkaliumjodwismutlösung versetzt. Von einem sofort auftretenden amorphen Niederschlag wird abfiltriert. Aus dem Filtrat krystallisieren allmählich charakteristisch gruppierte, dunkelrote Nädelchen aus. — Bei geringem Piperazingehalt wird der saure Verdampfungsrückstand des Harns mit festem Alkali und Sand destilliert und mit dem Destillat wie oben verfahren. — Bei grösserem Gehalt an Piperazin kann man auch mit Benzoylchlorid und Natronlauge die Benzoylverbindung ausscheiden und aus dem alkoholischen Auszug des Niederschlages nach dem Filtrieren durch Verdunsten auf dem Objektträger charakteristische Krystalle des Benzoates in Form von rhombischen, oft parallel aneinander gelagerten, niemals verzwillingten Täfelchen gewinnen.

Hexamethylentetramin. Urotropin $C_6H_{12}N_4$.



A. Vorkommen. Urotropin geht sehr rasch in den Harn über; es ist schon $^1/_4$ Stunde nach dem Einnehmen nachweisbar (Nicolaier, Bergell[2])).

B. Nachweis. 1. Nach Nicolaier gibt urotropinhaltiger Harn mit Bromwasser einen orangegelben Niederschlag von Di- und Tetrabrom-Urotropin.

2. Sicherer ist die Darstellung nach Bergell. 500 ccm Harn werden mit Ammoniak alkalisch gemacht und dann im Vakuum bei 50—60⁰ zum Sirup eingedampft. Der Rückstand wird mit 50 g geglühtem Natriumsulfat verrieben und im Vakuumexsiccator über kon-

[1]) Albr. Schmidt und G. Wichmann, Ber. d. chem. Gesellsch. **24**. 3237. 1891.

[2]) A. Nikolaier, Deutsche med. Wochenschr. 1895. 541. — P. Bergell, ebenda. 1907. 55.

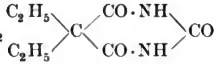
Digitized by Google

zentrierter Schwefelsäure getrocknet. Der Trockenrückstand wird mit Chloroform ausgekocht. Das Chloroform wird verdunstet und der Rückstand mit absolutem Alkohol aufgenommen. Durch Einleiten von Salzsäuregas wird Hexamethylentetraminhydrochlorid gefällt.

3. Durch Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure wird das Urotropin in Formaldehyd und Ammoniak gespalten. Man kann daher auch den mit Schwefelsäure angesäuerten Harn destillieren und das Destillat auf Formaldehyd prüfen (s. bei Methylalkohol).

C. Bestimmung nach Schröter[1]). Beruht auf der Unlöslichkeit des Hexamethylentetraminquecksilberchlorids in Essigsäure und dessen Löslichkeit in konzentrierter Kochsalzlösung. 100 ccm Harn werden mit 10 ccm 25%oiger Essigsäure und dann mit 80—100 ccm einer bei 30° gesättigten Sublimatlösung versetzt. Nach 6—12 Stunden filtriert man von dem Niederschlag, der sich gut abgesetzt haben soll, ab und wäscht mit sublimathaltigem Wasser aus. Dann spült man den Niederschlag in einen 10—15 ccm konzentrierte NaCl-Lösung enthaltenden Kolben, schüttelt gut durch, erwärmt $^1/_4$ Stunde auf dem Wasserbad und filtriert nach dem Erkalten. Im Filtrat fällt man durch 20%oige Kalilauge das Hg als Oxyd vollständig aus und bestimmt im Filtrat den N nach Kjeldahl. 1 ccm $^1/_{10}$-n-Säure entspricht 3,5 mg Urotropin.

Veronal. Diäthylmalonylharnstoff. Diäthylbarbitursäure.

$C_8H_{12}O_3N_2$ 

A. Vorkommen. Veronal tritt nach innerlicher Darreichung beim Menschen schon nach 40 Minuten, nach subkutaner Darreichung nach 15 Minuten im Harn auf. Nach 3—5 Tagen ist die Ausscheidung beendigt. Nach Eingabe von 0,3—0,5 g geht bis zu 92% unverändert in den Harn über. Nach grösseren Dosen dagegen wesentlich weniger (60—70%) (E. Fischer u. v. Mering, Ph. Fischer u. Hoppe). Das gleiche stellte Bachem im Versuche am Hund fest. Von grossen Dosen Veronal wird etwa die Hälfte im Organismus zerstört. Im Harn nach Tod durch Veronalvergiftung fand Heiduschka[2]) nur geringe Mengen von Veronal.

[1]) F. Schröter, Arch. f. exp. Path. **64**. 161. 1911.

[2]) E. Fischer und J. v. Mering, Therapie d. Gegenw. April 1904. — Ph. Fischer und J. Hoppe, Münch. med. Wochenschr. **56**. 1429. 1909. — C. Bachem, Arch. f. exp. Path. **63**. 288. 1910. — A. Heiduschka, Arch. d. Pharm. **249**. 322. 1911.

Digitized by Google

B. Eigenschaften. Veronal bildet schwach bitter schmeckende Krystalle, die in kaltem Wasser schwer, in heissem Wasser leicht löslich sind. Die wässerige Lösung reagiert schwach sauer gegen Lackmus. In Alkali oder Sodalösung ist es leicht löslich. Es schmilzt bei 191°. Bei höherer Temperatur sublimiert es in nadelförmigen Krystallen. In einer mit HCl schwach angesäuerten Lösung von Veronal entsteht mit Millonschem Reagens ein weisslicher gallertiger Niederschlag, der im Überschuss des Reagens löslich ist.

C. Nachweis. Durch Isolierung. Der mit Bleiacetat versetzte Tagesharn (nicht weniger als 200 ccm) wird filtriert und das Filtrat mit SH_2 entbleit. Vom Bleisulfidniederschlag wird abfiltriert und ausgewaschen. Nach Entfernen des SH_2 durch Erwärmen wird das Filtrat mit Tierkohle auf ein kleines Volumen eingedampft, filtriert und das Filtrat mit Kochsalz gesättigt. Diese Flüssigkeit wird durch Ausschütteln mit Äther erschöpft. Der Ätherrückstand besteht aus fast reinem Veronal. Durch Trocknen des Rückstandes im Exsiccator und Wägen kommt man zu genügendem Anhalt über die Menge des ausgeschiedenen Veronal (Molle u. Kleist[1]).

Salicylsäure. o-Oxybenzoesäure. $C_6H_4OH . COOH$.

A. Vorkommen. Nach Darreichung von Salicylsäure, salicylsauren Salzen und Stoffen, die im Darm Salicylsäure abspalten (z. B. Salol, Kresalol, Salipyrin, Aspirin, Novaspirin), geht in kurzer Zeit (15 Minuten) Salicylsäure in den Harn über.

Per rectum eingeführte Salicylsäure erschien nach 80 Minuten im Harn (John). Auch von der Haut aus resorbierte Salicylsäure geht in den Harn über. Im Harn des Neugeborenen lässt sich ebenfalls Salicylsäure nachweisen, wenn der Mutter während der Geburt Salicylsäure verabreicht wurde (Beneke, Pauly[2]).

Die Salicylsäure erscheint zum Teil als solche, zum Teil mit Glykokoll gepaart als Salicylursäure $OH.C_6H_4.CO.NH.CH_2COOH$. Beim Hund erscheint die Salicylsäure auch als gepaarte Schwefelsäure (Baumann und Herter), sowie als Salicylglycuronsäure (Baldoni); ferner in Form einer N-freien Säure (Ursalicylsäure und einer N-haltigen Säure (Uramidosalicylsäure) (Baldoni[3]).

B. Eigenschaften. 1. Salicylsäure krystallisiert aus Wasser in feinen Nadeln. In Wasser von 15° lösen sich 0,225%. In Alkohol, Äther, Chloroform, Benzol ist sie leicht löslich. Der Schmelzpunkt liegt bei 155—156°. Salicylsäure sublimiert unzersetzt. Sie ist mit Wasserdämpfen flüchtig. Dem natürlich sauren Harn lässt sich die

[1]) B. Molle und H. Kleist, Arch. d. Pharm. 1904. 401.

[2]) John, Edinburgh medical Journ. Nov. 1876. — Beneke, Zeitschr. f. Geburtsh. 1. 477. 1876. — Pauly, Dissert. Berlin 1879; Med. Zentralbl. 1880. 112.

[3]) E. Baumann und E. Herter, Zeitschr. f. physiol. Chem. 1. 264. 1877/78. — A. Baldoni, Jahresber. f. Tierchem. 35. 124. 1905. — Arch. f. exp. Path.; Schmiedebergfestschr. 54. 1908.

Digitized by Google

Salicylsäure indessen nicht durch Destillation entziehen (Fleischer[1])), wohl aber durch Ausschütteln mit Äther.

2. Salicylsäure und salicylsaure Salze färben sich mit Eisenchlorid, wie das Phenol, intensiv violett, nach Schulz mit Kupfervitriol smaragdgrün. Es lassen sich durch diese Reaktion noch Spuren Salicylsäure nachweisen. Andere freie Säuren entfärben die Lösung, Schwefelsäure und Salpetersäure nach Pagliani[2]) erst dann, wenn sie in grossem Überschuss vorhanden sind (400 Teile auf 1 Salicylsäure), Salzsäure und namentlich Essigsäure schon in viel geringeren Mengen.

C. Nachweis.

1. Nach dem Gebrauch von Salicylsäure entleerter Harn dreht links und reduziert Fehlingsche Flüssigkeit schwach; nach Neuberg[3]) kann die Reduktion auch beträchtlich sein.

2. Bei Gegenwart von 0,005 % und noch weniger Salicylsäure im Harn gelingt der Nachweis derselben mit Eisenchlorid noch gut; weniger für den Nachweis kleinerer Mengen Salicylsäure als für die Entfernung anderer, sich mit Eisenchlorid gleichfalls färbender Harnbestandteile empfiehlt sich aber nach dem Vorschlag von Robinet, den Harn vorher mit neutralem essigsauren Blei auszufällen, das überschüssige Blei durch verdünnte Schwefelsäure zu entfernen und das Filtrat mit Eisenchlorid zu versetzen. Ist die Flüssigkeit durch essigsaures Eisenoxyd rot gefärbt, so fügt man einige Tropfen verdünnter Schwefelsäure hinzu, wodurch die rote Färbung zum Verschwinden gebracht wird und die violette des salicylsauren Eisenoxyds rein hervortritt. Da das Filtrat vom Bleiniederschlage manchmal schnell nachdunkelt, so darf man das Filtrat vor der Prüfung mit Eisenchlorid nicht lange stehen lassen. Dunkelt das Filtrat schon während des Filtrierens, so fällt man mit basisch essigsaurem Blei aus, wodurch aber ein Verlust an Salicylsäure herbeigeführt wird (Bornträger[4])).

3. Nach Heffter ist es sicherer, dem mit Schwefelsäure angesäuerten Harn die Salicylsäure durch Äther zu entziehen und den Ätherextrakt mit 1 ccm sehr verdünnter Eisenchloridlösung zu schütteln. Späth[5]) schüttelt mit einem Gemisch von 3 Teilen leicht siedendem Petroläther und 2 Teilen Chloroform, versetzt in einem Zylinder mit einigen Kubikzentimeter Wasser und 1 Tropfen Eisenchlorid- oder noch besser Eisenalaunlösung.

Durch colorimetrischen Vergleich mit einer Salicylsäurelösung von bekanntem Gehalt kann man den Salicylsäuregehalt annähernd bestimmen.

Auch Salicylursäure färbt sich mit Eisenchlorid violett (siehe dort).

Bondzynski[6]) hat vorgeschlagen, die Salicylsäure zu isolieren und zu wägen. Man erhält aber zu hohe Werte, so dass für kleine Mengen das Verfahren nicht brauchbar ist.

4. Cazeneuve[7]) dunstet 100 ccm Harn auf 10 ccm ein, fügt 5 ccm Salzsäure und 20 g gebrannten Gips zu, bringt den Brei zur Trockne und erschöpft ihn in

[1]) R. Fleischer, Arch. f. klin. Med. **19.** 64 u. 78.

[2]) Schulz, Arch. d. Pharm. [3]. **15.** 246; Ch. Zentralbl. 1878. 694. — P. Pagliani, Zeitschr. f. analyt. Ch. **18.** 475.

[3]) C. Neuberg, Berl klin. Wochenschr 1911. Nr. 18.

[4]) Robinet, Comptes rendus **84.** 1321. — A. Bornträger, Zeitschr. f. anal. Ch. **20.** 87.

[5]) A. Heffter in C. Neuberg, Der Harn, 1911. 820. — E. Spaeth, Untersuchung des Harns. 3. Aufl. 1908. 549.

[6]) St. Bondzynski, Arch. f. exp. Path. **26.** 267. 1897. — St. Bondzynski und M. Humnicki, Anzeiger d. Krakauer Akad. d. Wissensch. 1908. 841.

[7]) Cazeneuve, Zeitschr. f. analyt. Ch. **19.** 254.

Digitized by Google

einem Extraktionsapparat mit Chloroform. Das Chloroform wird abdestilliert und der Rückstand aus kochendem Wasser umkrystallisiert. Enthält der Harn nur Spuren Salicylsäure, so tritt sie zuletzt nicht in Krystallen auf und man muss sich begnügen, sie mit Eisenchlorid nachzuweisen. In dieser Form ist die Probe aber viel empfindlicher als die direkte Prüfung des Harns mit Eisenchlorid.

Salicylursäure $C_9H_9O_4N$.

Eigenschaften. Sie krystallisiert in dünnen Nadeln, schmilzt bei 160°. In kaltem Wasser ist sie sehr wenig löslich, in Alkohol leicht löslich, weniger in Äther.

Nachweis. Derselbe erfolgt durch Trennen der Salicylsäure von der Salicylursäure.

Piccard [1]) verdampft den Harn, zieht den Rückstand mit Alkohol aus, verdunstet den Rückstand und behandelt diesen nach dem Ansäuern mit Äther, wobei die Salicylsäure zugleich mit der Salicylursäure in Lösung geht. Durch Sublimation erhält man die Salicylsäure rein. Die beiden Säuren lassen sich auch durch Krystallisation aus Äther oder Benzol trennen, wobei die (reichlicher vorhandene) Salicylsäure zuerst auskrystallisiert.

Salol (Salicylsäure-Phenylester) und Salophen (Salicylsäure-Acetylparaamidophenylester) werden beim Durchgang durch den Organismus in ihre Bestandteile gespalten. Die Salicylsäure wird nach den vorstehenden Methoden nachgewiesen, das Acetamidophenol durch die Indophenolreaktion (siehe später).

Pikrinsäure. Trinitrophenol $C_6H_2 . OH . (NO_2)_3$.

Pikrinsäure erscheint zum grossen Teil unverändert im Harn.

Pikrinsäure lässt sich dem orangegelb bis rot gefärbten Harn durch Schütteln mit Äther entziehen, ein Teil derselben nach Karplus [2]) erst nach dem Kochen desselben mit Salzsäure. Gelbe Krystalle. Die (gelbe) wässerige Lösung färbt Seide und Wolle echt, Baumwolle dagegen nicht echt, gibt beim Erwärmen mit Cyankalium die rote Isopurpursäure, mit Reduktionsmitteln (Schwefelammon; Zucker und Lauge) die gleichfalls rote Pikraminsäure.

Nach Walko [3]) findet sich im Pikrinsäureharn ein Aminokörper (Pikraminsäure? Amidodinitrophenol $C_6H_2.OH.(NO_2)_2.NH_2$). Zum Nachweis desselben nimmt man den Ätherextrakt mit Wasser auf, säuert mit etwas verdünnter Schwefelsäure an, fügt 2 Tropfen 1 %iger Natriumnitritlösung und einige Tropfen einer Lösung von β-Naphthol in Natriumcarbonatlösung hinzu. Macht man mit NaOH alkalisch, so tritt rotviolette Färbung (Azofarbstoff) ein. Beim Schütteln mit Äther färbt sich der Äther amethystblau.

Guajacol, Brenzkatechinmethyläther $C_7H_8O_2$; $[C_6H_4OH . OCH_3]$.

A. Vorkommen. Nach Eingabe von Guajacol und dessen Ester, soweit sie im Darm gespalten werden, tritt ein grosser Teil des Guajacols als Guajacolschwefelsäure in den Harn über (Hensel, Eschle, Knapp und Suter). Daneben tritt anscheinend ein Teil als Guajacolglycuronsäure auf, worauf die nach grösseren Guajacoldosen

[1]) Piccard, Ber. d. chem. Gesellsch. 8. 817; Zeitschr. f. anal. Ch. 15. 115.
[2]) J. T. Karplus, Zeitschr. f. klin. Med. 22. 210. 1893.
[3]) K. Walko, Arch. f. exp. Path. 46. 181. 1901.

Digitized by Google

zu beobachtende Linksdrehung des Harns schliessen lässt (Külz, Hensel, Eschle). Nach Eingabe von grossen Mengen Kreosot kann man auch direkt mit Äther extrahierbares freies Guajacol im Harn nachweisen (Boruttau u. Stadelmann[1]). Das Guajacol lässt sich schon $^1/_4$ Stunde nach der Eingabe im Harn nachweisen. Nach Spaltung der Guajacolschwefelsäure bzw. Glycuronsäure lassen sich 75—80% des eingeführten Guajacol im Harn wieder finden.

B. Eigenschaften.

1. Guajacol bildet rhomboedrische Prismen vom Smp. 31—32° und Sdp. 205°. 1 ccm löst sich bei 15° in 60 ccm Wasser.

2. Die alkoholische Lösung des Guajacol gibt mit Eisenchlorid eine smaragdgrüne Färbung (Gorup). — 1 Tropfen Guajacol gibt mit konzentrierter Schwefelsäure purpurrote Färbung (Marfori). — Die wässerige Lösung mit 1—2%iger Chromsäurelösung behandelt gibt eine bräunliche Färbung und Fällung (Guérin). — Mit Vanillin und Salzsäure gibt Guajacol eine Rotfärbung (Hartwich und Winkel). — Beim Erwärmen mit Chloroform und Kaliumhydrat färbt sich Guajacol violett (Lambert[2]).

C. Nachweis. Der Harn dreht nach dem Entfärben mit Bleiacetat links. Das Guajacol lässt sich aus dem bei alkalischer Reaktion eingeengten Harn sowie auch aus dem frisch entleerten Harn durch Destillation nach Ansäuern mit Schwefelsäure oder Salzsäure austreiben. Äther nimmt aus dem Harn das freie Guajacol direkt, das gepaarte Guajacol nach Spaltung durch Erwärmen mit Salzsäure auf. Auch dem Harndestillat entzieht man das Guajacol durch Ausschütteln mit Äther. Der nach dem Verdunsten des Äthers bleibende Rückstand wird in Alkohol gelöst. Die alkoholische Lösung gibt mit einer Spur Eisenchlorid Blaufärbung, mit mehr Eisenchlorid Grünfärbung. Das Harndestillat selbst färbt sich nach Poggi[3]) mit Eisenchlorid vorübergehend blau, dann braun; es trübt sich mit ammoniakalischer Silberlösung gelbgrün und gibt mit Bromwasser einen orangeroten, schnell kaffeebraun werdenden Niederschlag. Es rührt das daher, dass das Guajacol zum Teil zu Pyrogallol- und Oxyhydrochininverbindungen gespalten wird, so dass Phenol auftritt. Daher färbt sich der Harn auch beim Stehen an der Luft dunkel.

D. Bestimmung. Man kann das Guajacol nach der zum Nachweis angegebenen Vorschrift isolieren und wägen (Eschle, Hensel).

[1]) R. Hensel, Dissert. Königsberg 1894. — Eschle, Zeitschr. f. klin. Med. **29**. 197. 1896. — Th. Knapp und F. Suter, Arch. f. exp. Path. **50**. 332. 1906. — E. Külz, Pflügers Arch. **28**. 506. 1882. — Boruttau und Stadelmann, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **91**. 42. 1907.

[2]) Gorup, Ann. der Chem. u. Pharm. **147**. 248. 1868. — Marfori, Chem. Zentralbl. 1890. II. 155. — Guérin, Journ. de Pharm. et de Chim. [6]. **17**. 173. 1903. — Hartwich und Winkel, Arch. d. Pharm. **242**. 464. 1904. — L. M. Lambert, Zeitschr. f. analyt. Chem. **32**. 235.

[3]) Poggi, Ann. di chim. et di farm. **17**. 3. 1891; Jahresber. f. Tierchem. **23**. 293. 1893.

Digitized by Google

Verfahren von Knapp und Suter. Dasselbe beruht darauf, dass eine wässerige Guajacollösung bei Gegenwart von Natriumacetat mit einer schwach salzsauren Lösung von p-Nitrodiazobenzol einen gelben unlöslichen Azofarbstoff gibt. — Man destilliert 500—600 ccm Harn nach Zusatz von Salzsäure im Dampfstrom, bis etwa 3 Liter Destillat erhalten worden sind. Das Destillat versetzt man mit Natriumacetat und lässt eine schwach salzsaure $^1/_{10}$-Normallösung von β-Nitrodiazobenzol zufliessen. Es scheidet sich der unlösliche Azofarbstoff aus. Man lässt so lange Nitrodiazobenzollösung hinzufliessen, bis eine abfiltrierte Probe mit R-Lösung (2-Naphthol-3,6-Disulfosäure) eben einen roten Azofarbstoff bildet, als Zeichen dafür, dass nun ein Überschuss des Nitrodiazobenzol hinzugegeben ist. Ein Molekül des verbrauchten Nitrodiazobenzol entspricht 1 Mol. Guajacol. 1 ccm = 0,0124 g Guajacol.

Thymol. Methylpropylphenol. $C_{10}H_{14}O$. $[C_6H_3 . OH . CH_3 . C_3H_7.]$

A. Vorkommen. Thymol innerlich dargereicht wird beim Menschen zum Teil als Thymohydrochinon $(C_6H_2 . (OH)_2 . CH_3 . C_3H_7;$ $C_{10}H_{14}O_2)$, zum Teil als gepaarte Schwefelsäure und gepaarte Glycuronsäure ausgeschieden (Blum, Külz). Beim Kaninchen tritt ebenfalls gepaarte Glycuronsäure auf, nicht aber beim Hund (Katsuyama und Hata)[1]). (Siehe auch beim Karbolharn.)

B. Eigenschaften. Nach Thyman riechende Krystalle vom Smp. 50°. Bei 19,4° löst sich 1 Teil in 1176 ccm Wasser; in Alkohol, Äther, Chloroform ist Thymol leicht löslich.

C. Nachweis. Der Harn wird unter Salzsäurezusatz (zur Spaltung des gepaarten Thymols) destilliert, das Destillat wird mit Äther geschüttelt. Beim Verdunsten hinterbleiben Thymolkrystalle. Löst man die Krystalle in 50%iger Kalilauge und setzt dann einige Tropfen Chloroform hinzu, so entsteht beim Schütteln eine Violettfärbung (Desesquelle). Man kann auch dem Harn das Thymol durch Schütteln mit Chloroform entziehen und das abgetrennte Chloroform mit etwas festem Kaliumhydrat leicht erwärmen, um diese Violettfärbung zu erzielen. — Thymol gibt mit Vanillin und Salzsäure Rotfärbung (Hartwich u. Winkel). — Versetzt man eine wässerige Thymollösung mit $^1/_2$ Volumen Eisessig und 1 Volumen konzentrierter Schwefelsäure und erwärmt, so färbt sich die Mischung rotviolett. Die Lösung zeigt ein zur Identifizierung geeignetes breites, dunkles spektrales Absorptions-

[1]) F. Blum, Deutsche med. Wochenschr. **17**. 186. 1891. — Zeitschr. f. physiol. Chem. **16**. 514. 1892. — E. Külz, Zeitschr. f. Biol. **27**. 252. 1891. — K. Katsuyama und S. Hata, Ber. d. chem. Gesellsch. **31**. 2583. 1898.

Digitized by Google

band bei 495—560 μμ und ein schwächeres schmäleres bei D (Robbert, Wolff)[1]).

Das Thymohydrochinon bleibt bei der Destillation mit HCl zurück und kann dann durch Ausschütteln mit Äther gewonnen werden. Es schmilzt bei 139° und reduziert stark ammoniakalische Silberlösung (Blum).

Naphthalin $C_{10}H_8$ und Naphthol $C_{10}H_7.OH$.

A. Vorkommen. Naphthalin geht teils als α-Naphtholglykuronsäure (siehe später) und, wie die Reaktionen des Harns annehmen lassen, wohl auch als eine β-Naphtholverbindung, teils, da sich der Harn beim Stehen, wie Dioxynaphthalin, $C_{10}H_6(OH)_2$, schwärzt und nach Baumann u. Herter die Ätherschwefelsäuren in ihm vermehrt sind, wahrscheinlich als Dioxynaphthalin in den Harn über (Lesnik u. Nencki). Auch kann er zugleich unverändertes Naphthalin enthalten (Baumann u. Herter, Rossbach)[2]).

B. Nachweis. a) Versetzt man frischen Harn mit einigen Tropfen Ammoniak oder Natronlauge, so tritt nach Edlefsen[3]). oft unter leichter Bräunung, eine blaue Fluoreszenz auf, ähnlich der einer Chininlösung oder der von Petroleum, besonders nach starker Verdünnung des Harns. β-Naphthol fluoresziert nach Zusatz von Alkalien schön blau.

b) Versetzt man nach Edlefsen[3]) 5—6 ccm frischen Harn mit 3—4 Tropfen Chlorkalklösung und einigen Tropfen Salzsäure, so färbt sich die Mischung in der Regel stark zitronengelb. Äther färbt sich beim Schütteln mit der Probe rein gelb. Schichtet man den Äther auf eine wässerige (1 %ige) Resorcinlösung, fügt einige Tropfen Ammoniak zu und schüttelt, so färbt sich das Resorcin schön blaugrün und auf Zusatz von Salpetersäure hellkirschrot; Äther nimmt dann beim Schütteln mit der roten Flüssigkeit eine schön rote Färbung an. Die Reaktion wird durch die Bildung von β-Naphthochinon $C_{10}H_6O_2$ bedingt. Auch der Harn gibt die Reaktion direkt, wenn er anfangs rein gelb wurde, aber nicht so schön wie die ätherische Lösung. Indicanreiche Harne färben den Äther nicht bloss gelb, sondern zugleich violett, doch wird das Resorcin noch grün.

c) Bringt man nach Edlefsen[3]) einige Tropfen Harn auf Fliesspapier, betupft die Stelle mit festem Diazoamidobenzol und erwärmt über einer Flamme, so färbt sich der Fleck rot oder umgibt sich mit roten Rändern (Bildung von Diazobenzol-β-Naphthol, B. Fischer und Wimmer[4]).

d) Lässt man nach Penzoldt[5]) zu einer Spur Naphthalinharn konzentrierte Schwefelsäure fliessen, so färbt sich der aufschwimmende Harn sofort dunkelgrün, an der Grenze beider Flüssigkeiten ist die Färbung besonders schön und allmählich nimmt auch die Schwefelsäure dieselbe Färbung an. Später geht sie in grau- oder braungrün über. β-Naphthochinon, welches sich mit Schwefelsäure auch grün färbt, kann nach Edlefsen die Reaktion nicht veranlassen, da verdünnte

---

[1]) Desesquelle, Jahresber. f. Tierch. **20.** 181. 1890. — Hartwich und Winkel, Arch. d. Pharm. **242.** 464. 1904. — Robbert, Jahresber. f. Tierchem. **11.** 109. 1881. — Wolff, Zeitschr. f. analyt. Chem. **22.** 96. 1883.

[2]) Baumann und Herter, Zeitschr. f. physiol. Ch. **1.** 267. 1878. — Lesnik und Nencki, Arch. f. exp. Path. **22.** 171. — M. Rossbach, Berl. klin. Wochenschr. **21.** 729. 1884.

[3]) Edlefsen, Verhandl. des VII. Congr. f. inn. Med. zu Wiesbaden 1888.

[4]) B. Fischer und H. Wimmer, Ber. d. chem. Gesellsch. **20.** 1577.

[5]) Penzoldt, Arch. f. exp. Path. **21.** 34. — Lesnik und Nencki, Arch. f. exp. Path. **22.** 171.

Digitized by Google

wässerige Lösungen desselben oder Auflösungen von β-Naphthochinon im Harn die Färbung nicht zeigen.

e) Eine Lösung von α- oder β-Naphthol in starker Kalilauge färbt sich nach Lustgarten [1]) beim Erwärmen mit Chloroform oder festem Chloralhydrat auf 50° schön berlinerblau; beim Stehen wird die Flüssigkeit grün und endlich braun. Mittels dieser Reaktion hat Lustgarten nach äusserlicher Anwendung von Naphthol solches im Harn nachgewiesen. Von dem stark mit Salzsäure angesäuerten Harn wurde die Hälfte abdestilliert, das Destillat mit Äther ausgeschüttelt, dem Äther das Naphthol durch Kalilauge entzogen, und mit dieser Lösung die Probe vorgenommen. Da aber die alkalische Lösung immer bräunlich ist, so ist die Färbung mehr grün. Ebenso lässt sich durch Äther aus dem Retortenrückstand noch Naphthol gewinnen; da aber dieser ätherische Auszug stark gefärbt ist, so verdunstet man, löst den Rückstand in Alkohol und entfärbt in gelinder Wärme durch Tierkohle; bei der Entfärbung in der Kälte kann wenig Naphthol von der Kohle ganz zurückgehalten werden. Auch empfiehlt es sich, den Auszug aus dem Destillat zu entfärben.

f) Naphthalinharn färbt sich beim Stehen dunkel (bis dunkelschwarzbraun), hellt sich aber manchmal wieder auf und bleibt bei Luftabschluss hell. Der hellgewordene Harn färbt sich nach Edlefsen [2]) auf Zusatz des gleichen Volumens konzentrierter Essigsäure in 2—4—12 Stunden braungelb; Salzsäure oder Salpetersäure bewirken eine schnell vorübergehende Rotfärbung. Schüttelt man solchen Harn mit verflüssigtem Phenol, so wird er allmählich rosen- bis purpurrot, schneller auf Zusatz von 2—3 Tropfen Essigsäure. Wenn diese Reaktion nicht mehr eintritt, so gibt der Harn mit Resorcin noch die β-Naphthochinonreaktion (b), ohne Chlorkalk, sowie mit Alkalien die blaue Fluoreszenz (a).

g) Setzt man zu 8—10 ccm Naphthalinharn 4—5 Tropfen Eisessig und 3—4 Tropfen 1 %ige Natriumnitritlösung, so tritt eine dunkelrote Färbung auf (Edlefsen [2]).

h) Zum direkten Nachweis des β-Naphthol destilliert man grössere Mengen mit Schwefelsäure angesäuerten Harn ab. Das Destillat wird mit Äther ausgeschüttelt. Der Ätherrückstand kann durch Umkrystallisieren aus wenig warmem Alkohol (mit Tierkohle entfärben!) gereinigt werden. β-Naphthol bildet in kaltem Wasser schwerlösliche bei 122° schmelzende Krystalle. Löst man die Krystalle in etwas konzentrierter Kalilauge und gibt dann einige Chloralhydratkrystalle hinzu, so tritt beim Erwärmen grünblaue Farbe auf (Lustgarten [3])). — Fügt man zu 5 ccm einer 1 %igen Anilinchlorhydratlösung einige Tropfen konzentrierter Salzsäure und einige Tropfen 5 %ige Natriumnitritlösung und dann etwas alkalische β-Naphthollösung und macht mit Lauge alkalisch, so entsteht ein scharlachroter Azofarbstoff.

Copaivaharn.

Nach dem Gebrauch von Copaivaöl sind eigentümliche Veränderungen des Harns beschrieben.

Die Copaivaöle verschiedener Herkunft weichen beträchtlich voneinander ab, so dass dadurch die teilweise widersprechenden Angaben inbezug auf die Veränderungen des Harnes wohl erklärt sind. Der Copaivabalsam der verschiedenen südamerikanischen Copaiferaarten ist durch Destillation in ein Öl und ein Harz zu trennen. Das Öl macht je nach der Güte der Sorte 40—90 % des ganzen Balsam aus. Das Öl besteht aus dem auch im Nelkenöl enthaltenen Sesquiterpen Caryophyllen ($C_{15}H_{24}$). Das Deutsche Arzneibuch lässt nur dickflüssige Balsame (spezifisches Gewicht 0,98—0,99) zu und verlangt, dass dieselben die von Quincke

[1]) Lustgarten, Monatsh. f. Ch. 3. 720.
[2]) G. Edlefsen, Arch. f. exp. Path. 52. 429. 1905.
[3]) J. S. Lustgarten, Monatsh. f. Ch. 3. 715. 1882.

Digitized by Google

angegebene Reaktion mit Salzsäure nicht geben (siehe später). An den Veränderungen des Harns ist das Harz des Balsam nicht beteiligt.

Veränderungen des Harns. 1. Farbenreaktion mit Salzsäure. Auf Zusatz von Salzsäure färbt sich nach Quincke[1]) Copaivaharn rosen- und purpurrot und zeigt dann drei Absorptionsstreifen, einen ziemlich verwaschenen α im Orange links von D, einen breiteren und viel dunkleren β im Grün zwischen D und E und einen breiten und verwaschenen γ im Blau zwischen F und G näher bei F. Ähnlich wie Salzsäure wirken auch Salpetersäure und Schwefelsäure, schwächer Metaphosphorsäure und konzentrierte Essigsäure. Verdünnte Essigsäure ruft die Färbung gewöhnlich nicht hervor. — Berthoud[1]) zeigte, dass nur nach Gebrauch solcher Balsame, die diese Reaktion direkt zeigen (z. B. auch nach Gebrauch von Gurjunbalsam), diese Reaktion im Harn zu beobachten ist. Da das Arzneibuch nur solche Copaivabalsame zulässt, welche diese Reaktion nicht zeigen, so wird nach Benutzung derartiger offizineller Balsame die Reaktion im Harn vermisst.

Nach le Nobel nimmt Äther, Amylalkohol, Petroläther die sich mit Säuren rot färbende Substanz aus dem Harn auf, Chloroform dagegen sehr schwer. Auch in Alkohol ist die Substanz löslich. Die Reaktion kommt wahrscheinlich durch ein Terpen zustande, welches Brix[2]) aus Copaivabalsam darstellte. — Durch Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Äther wird das Copaivarot nach Quincke dem Harn nicht entzogen, wohl aber durch Amylalkohol und durch alkoholhaltiges Chloroform.

2. Auf Zusatz von Säuren entsteht eine Trübung durch Ausscheidung von Harzsäuren; diese Trübung kann durch Alkohol beseitigt werden (s. auch bei Eiweissnachweis im Harn).

3. Beim Kochen des angesäuerten Harns tritt ein Harzgeruch auf.

4. Der Copaivaharn dreht schwach nach links (Quincke, Berthoud). Nach Berthoud ist das auf das Auftreten gepaarter Glycuronsäuren zurückzuführen.

5. Copaivaharn reduziert nach Quincke Fehlingsche Lösung, nicht aber Wismutlösung; nach Berthoud dagegen reduziert Copaivaharn stets mehr oder weniger deutlich Nylanders Reagens, Fehlingsche Lösung dagegen nicht. Nur nach Verwendung von „Parabalsam" wird nach Berthoud auch Fehlingsche Lösung reduziert. Nach Berthoud ist auch dieses Reduktionsvermögen auf das Auftreten gepaarter Glycuronsäuren zurückzuführen.

[1]) H. Quincke, Arch. f. exp. Path. 17. 273. 1883. — G. Berthoud, Dissert. Bern 1905.

[2]) C. le Nobel, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1884. 17. — Brix, Monatsh. f. Ch. 2. 507.

Digitized by Google

Piperazin.

Piperazin (Diäthylendiamin $HN(C_2H_4)_2NH$). Nach A. Schmidt und Wichmann wird die hauptsächliche Menge der Basis bereits nach wenigen Stunden ausgeschieden, der Rest erst in mehreren Tagen. Es geht unverändert in den Harn über. Nach denselben weist man es am besten in folgender Weise nach. Der Harn wird durch einige Tropfen Natronlauge von Erdalkaliphosphaten befreit, mit Salzsäure schwach angesäuert und bei 40° mit Jodwismutkalium versetzt. Ein stets entstehender amorpher Niederschlag wird abfiltriert. Nach einiger Zeit erscheinen, schneller beim Rühren (Gordon[1]), tief granatrote rechtwinklige Täfelchen oder Stäbchen, einzeln oder zu Sternen angeordnet. Bei grösseren Mengen kann man auch die Benzoylverbindung durch Schütteln des Harns mit Benzoylchlorid und Natronlauge (S. 325) darstellen; sie krystallisiert aus dem Alkoholauszug des Niederschlags in rhombischen Täfelchen. Enthält der Harn nur wenig von der Basis, so destilliert man sie aus dem Verdampfungsrückstand nach Zusatz von festem Alkali und Sand ab.

Lysidin.

Lysidin, Methylglyoxalidin (Äthenyläthylendiamin
$CH_2 - NH \searrow$
$| \qquad\qquad\qquad C . CH_3$
$CH_2 - - N \nearrow$)

Lysidin ist wegen seiner harnsäurelösenden Eigenschaft als Arzneimittel empfohlen (Ladenburg, Grawitz). Der Harn wird nach Ladenburg[2]) auf ein kleines Volumen eingedampft, mit starker Natronlauge versetzt und wiederholt mit Chloroform ausgeschüttelt, welches das Lysidin aufnimmt. Nach dem Trocknen mit Kaliumcarbonat destilliert man das Chloroform ab, wobei das Lysidin meist in zerfliesslichen Krystallen zurückbleibt. Bei längerem Schütteln der wässerigen Lösung der Basis mit Benzoylchlorid und einem grösseren Überschuss an Natronlauge (S. 325) erhält man in Alkohol schwer lösliches, bei 244° schmelzendes Dibenzoyläthylendiamin.

Anthrachinonharne.

Eine ganze Anzahl gebräuchlicher Abführmittel [Rhabarber (Rheum). Cortex frangulae, Cascara sagrada, Folia Sennae, Aloe] enthalten Anthrachinone [Dioxymethylanthrachinone: Chrysophansäure $C_{14}H_5O_2(CH_3)(OH)_2$, bzw. Trioxymethylanthrachinone: Emodine $C_{14}H_4O_2(CH_3)(OH)_3$]. Diese Substanzen werden im Harn teils als solche, teils gepaart (Glycuronsäuren) ausgeschieden. Auch nach Darreichung von Chrysarobin tritt Chrysophansäure im Harn auf (Lewin u. Rosenthal)[3]).

Verhalten derartiger Harne. Derartige Harne sind gelb oder grünlichgelb, ikterischen ähnlich, auf Zusatz von Alkalien, oder wenn dieselben spontan alkalisch werden, werden sie mehr oder weniger ausgesprochen rot. Beim Ansäuern nehmen sie die ursprüngliche Farbe wieder an (Heller, Kletzinski, Rose, Natta,

[1]) Albr. Schmidt und G. Wichmann, Ber. d. chem. Gesellsch. 24. 3237. 1891. — J. Gordon, Brit. med. Journ., Juni 1894; Ch. Zentralbl. 2. 710. 1894.
[2]) A. Ladenburg, Ber. d. chem. Gesellsch. 28. 3069. 1896. Grawitz, Deutsche med. Wochenschr. 1894. Nr. 1.
[3]) L. Lewin und O. Rosenthal, Virchows Arch. 85. 118.

Digitized by Google

Smith[1]). Es beruht das auf der Anwesenheit der oben genannten Anthrachinonverbindungen, welche rote Salze bilden. Erhitzt man den mit Natronlauge alkalisch gemachten Harn zum Sieden, so sind die ausfallenden Phosphate rot (Heller), siehe auch bei Hellers Blutprobe.

Nach dem Gebrauch von Rheum reduziert der Harn Kupferoxydhydrat (Grigge) sowie Wismuthoxyd (Proksch[2])).

Beim Ausschütteln des sauren Harns mit Äther gehen die Anthrachinonverbindungen in den Äther über (Penzoldt). Man soll nach Tschirch[3]) den Harn erst mit 1 Tropfen Kalilauge kochen, dann mit Salzsäure ansäuern und mit Äther schütteln. Schüttelt man den abgetrennten Äther mit verdünntem Ammoniak, so wird die wässerige Schicht kirschrot. — Wird der Harn nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure mit Ammonsulfat gesättigt, so fällt nach Méhu[4]) mit anderen Substanzen auch die Chrysophansäure, oft in sehr geringer Menge, aus; beim Behandeln des Filters mit Ammoniak erhält man eine rote Lösung, eine Reaktion, welche jedoch wegen der gleichzeitigen Gegenwart von Hämatoporphyrin nicht eindeutig ist. — Schüttelt man Rheumharn mit Salzsäure und Xylol und überschichtet das von der wässerigen Flüssigkeit getrennte Xylol mit Kalilauge, so entsteht nach Proksch[2]) an der Grenzfläche eine rosenrote Färbung. Bei Verwendung von Salzsäure und Chloroform ist die Grenzschicht violett, mit schwefliger Säure und Chloroform rosenrot, mit Sulfanilsäure und Xylol weinrot.

Auch Darreichung von Purgen (Phenolphthalein $C_{20}H_{14}O_4$) bewirkt, dass der Harn sich auf Zusatz von Alkali rot färbt. Über Santoninharn und seine Unterscheidung von Anthrachinonharn siehe Santonin.

Aloe. Nach Meyer[5]) schüttelt man den Harn im Reagenzglas mit dem gleichen Volumen Essigäther und versetzt den Auszug mit einem Tropfen Piperidin. Natal-Aloin wird dabei violettrot, in konzentrierter Lösung tiefblau. Die Lösung von Barbados-Aloin wird zunächst gelb; schüttelt man darauf die Lösung mit verdünnter Essigsäure, so bleibt der gelbe Farbstoff (unverändertes Aloin) im Essigäther und die wässerige Lösung erscheint violettrot. — Man kann sich auch der Reaktion von Klunge bedienen. Dazu lässt man den Essigäther verdunsten und löst den Rückstand in wenig Alkohol; auf Zusatz einer Spur Kupfersulfat tritt Rotfärbung ein.

Santonin.

Santonin, der wirksame Bestandteil des Wurmsamens, $C_{15}H_{18}O_3$, bewirkt folgende Veränderungen des Harns. 1. Es tritt ein Farbstoff auf, der dem Harn eine zitronengelbe bis Orangefarbe verleiht. Bei alkalischer Reaktion schlägt die Farbe ins Rot um, ähnlich wie die Anthrachinonharne (s. dort). Der Farbstoff war nach Eingabe von 0,025—0,05 g nach $1/2$—1 Stunde im Harn nachweisbar und 24—32 Stunden lang vorhanden (Griebel). 2. Jaffé[6]) hat bei Hunden neben wenig Santonin

[1]) Heller, dessen Arch. 4. 2. 1847. — Kletzinsky, Hellers Arch. [2]. 1. 186 u. 342. — E. Rose, Virchows Arch. 16. 233. 1859. — Natta, Zeitschr. f. analyt. Chem. 4. 494. — G. Smith, ebenda, 10. 254.

[2]) G. Grigge, Boll. chim. Pharm. 1895. 609; Chem. Zentralbl. 2. 322. 1895. — E. Proksch, Zeitschr. d. österreich. Apothekervereins 49. 337; Chem. Zentralbl. 2. 65. 1892; 2. 130. 2897.

[3]) Tschirch, Pharm. Post. 1900. Nr. 40. — Penzoldt, Sitzungsber. d. physik. med. Societät zu Erlangen 1884; Virchow-Hirschs Jahresber. 1. 148. 1884.

[4]) C. Méhu, Journ. de Pharm. et Chim. [4]. 28. 164. 1878.

[5]) H. Meyer, Arch. f. exp. Path. 28. 188. 1891.

[6]) E. Griebel, Dissert. Leipzig 1897. — M. Jaffé, Zeitschr. f. physiol. Chem. 22. 538. 1897; Zeitschr. f. klin. Med. 17. Suppl. 7. 1890.

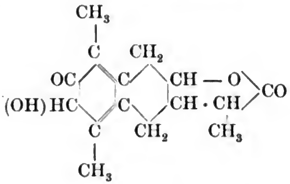
Digitized by Google

etwa 5—6% des verfütterten Santonin als α-Oxysantonin ($C_{15}H_{18}O_4$) wiedergefunden. Bei Kaninchen fand Jaffé neben reichlich Santonin wenig α-Oxysantonin (0,5—1%) und in grösserer Menge ein isomeres β-Oxysantonin.

Im menschlichen Harn sind weder Santonin noch Oxysantonine bisher nachgewiesen.

I. Santonin krystallisiert in farblosen Blättchen oder Prismen vom Schmp. 169—170°. In 250 Teilen Wasser von 17,5° ist es löslich; löslich in 2,7 Teilen Alkohol bei 80°, in 42 Teilen Äther bei 40°. Santonin ist das Lakton einer Santoninsäure; es ist linksdrehend: $\alpha_D = -171—173°$. Durch Reduktion mit Natriumamalgam entsteht Dihydrosantoninsäure $C_{14}H_{22}O_5$. Das Santonin lässt sich gewinnen durch Erschöpfen des Materials (Harnrückstand) mit 15%igem Alkohol, Verdampfen, Auflösen in 90%igem Alkohol, Ausfällen der Harze durch siedendes Wasser, Klären des Filtrates mit Bleiacetat und Ausschütteln mit Chloroform (Goerlich[1])).

II. α-Oxysantonin, $C_{15}H_{18}O_4$, hat nach lo Monaco die Formel:



Rhombische Tafeln. Schmp. 280°. Wenig löslich in Wasser. Auch in Alkohol und Chloroform ziemlich schwer löslich. Durch Reduktion mit Natriumamalgam entsteht Dihydrooxysantonin (Jaffé, lo Monaco[2])). Mit Lauge entsteht α-Oxysantoninsäure. Das α-Oxysantonin ist darstellbar aus dem Harnrückstand durch Ausziehen mit Alkohol, Verdunsten der alkoholischen Lösung, Aufnehmen des Rückstandes mit schwefelsäurehaltigem Wasser und Ausschütteln mit Äther. Die beim Verdunsten des Äther auskrystallisierende Masse wird durch häufiges Umkrystallisieren aus siedendem Alkohol gereinigt (10—15 mal, Jaffé). Die Lösungen sind schwach linksdrehend. Jaffé hatte zunächst aus Hundeharn einen Stoff erhalten, den er als Santogenin bezeichnete. Durch Umkrystallisieren erhielt er daraus das α-Oxysantonin.

III. β-Oxysantonin ($C_{15}H_{18}O_4$). Krystallinische Masse, Schmp. 128—131°, wenig löslich in kaltem Wasser, besser in heissem Wasser; leicht löslich in kaltem Alkohol, Äther und Chloroform, unlöslich in Petroläther. Die Lösungen sind linksdrehend. Mit Natronlauge färben sich die Krystalle orangerot bis rot. Zur Darstellung wird die alkoholische Lösung des Harnrückstandes mehrmals mit konzentrierter Lösung von Natriumcarbonat geschüttelt. Die Natriumcarbonatlösung wird nach dem Abtrennen mit Schwefelsäure angesäuert und abermals mit Äther ausgeschüttelt; der krystallinische Rückstand wird in Chloroform gelöst und aus dieser Lösung durch Petroläther ausgefällt.

---

1) Goerlich, Apotheker-Zeitung 25. 801. 1910.
2) O. lo Monaco, Gazetta chim. ital. 27. 11. 1897.

Digitized by Google

IV. Unterscheidung des Santoninharns von Anthrachinonharnen.

1. Nach I. Munk[1]) wird Rheumharn auch durch kohlensaure Alkalien sofort rot. Santoninharn nur langsam und allmählich; die Färbung des Rheumharns durch Alkalien ist beständig, die des Santoninharns verschwindet in 24—48 Stunden. Der durch Alkali rot gewordene Rheumharn wird bei der Digestion mit Zinkstaub entfärbt, der Santoninharn nicht. Rheumharn gibt beim Fällen mit Barytwasser oder Kalkmilch einen roten Niederschlag und der Harn wird entfärbt; beim Santoninharn ist der Niederschlag farblos und der Harn bleibt rot.

2. Nach Kletzinsky gibt Rheumharn mit essigsaurem Blei einen rosenroten Niederschlag. Aus Santoninharn fällt nach Smith nicht Bleizucker, wohl aber Bleiessig den Farbstoff; er wird dem Niederschlag durch schwefelsäurehaltigen Alkohol entzogen. — Schüttelt man nach Penzoldt[2]) Rheumharn mit Äther, so nimmt dieser die Chrysophansäure auf und wird gelb, während Äther beim Schütteln mit Santoninharn farblos bleibt. Der ätherische Auszug aus Rheumharn färbt Kalilauge rot, der mit Santoninharn geschüttelte Äther lässt das Alkali ungefärbt.

3. Nach G. Hoppe-Seyler[3]) gibt mit Natron alkalisch gemachter Santoninharn den Farbstoff bis zur Entfärbung des Harns an Amylalkohol ab, dem alkalischen, Chrysophansäure enthaltenden Harn entzieht der Amylalkohol die Säure nicht oder nur in ganz geringer Menge. Aus saurem Santoninharn wird vom Amylalkohol nichts aufgenommen; macht man den Harn aber erst alkalisch, dann mit Essigsäure sauer und lässt ihn längere Zeit stehen, so geht der nun entstandene gelbe Farbstoff in den Amylalkohol über, wird aber von diesem nicht an alkalihaltiges Wasser abgegeben. Aus sauer reagierendem Harn nimmt Amylalkohol die Chrysophansäure leicht auf; alkalisches Wasser färbt sich darauf mit dem Alkohol rot. Der durch Alkali gerötete Santoninharn verdunkelt, wie auch Smith angibt, die rechte Seite des Spektrums von E an. Der rot gemachte Chrysophansäureharn zeigt keine charakteristische Absorption.

Sandelöl.

Sandelöl. Das ätherische Öl des gelben ostindischen Sandelholzes besteht zu 90 % aus Santalol $C_{15}H_{24}O$. Dasselbe findet als Gonorol, Santyl (Salicylsäureester), Thyresol (Metyläther) therapeutische Verwendung. Santalol wird fast ganz als Glycuronsäureverbindung ausgeschieden (Hildebrandt, Caro, Luzzatto). Santyl erscheint nur in geringer Menge als Glycuronsäureverbindung in der Hauptsache als gepaarte Schwefelsäure und mit Glykokoll gepaart (Luzzatto). Thyresol ($C_{15}H_{23}O.CH_3$) spaltet kein Santalol ab, sondern erscheint als gepaarte Glycuronsäure (Knauth, Baumer). Bei der Paarung des Santalol wird ein Isoprenrest (C_5H_6) abgespalten und gleichzeitig eine CH_3-Gruppe oxydiert ($C_{16}H_{24}O_9$) (Hildebrandt[4])).

Verhalten des Harns. Der Harn dreht schwach links und reduziert stark. Im Gegensatz zum Copaivaharn (siehe dort) tritt auf Zusatz von Säure keine Farbenreaktion ein. Mit konzentrierter Salzsäure werden Harzsäuren abgeschieden (Caro). 12—15 Stunden nach der Einnahme ist der Harn wieder normal. Der

[1]) J. Munk, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1878. 411; Virchows Arch. **72**. 136. 1878.

[2]) Kletzinsky, Hellers Arch. [2]. **1**. 186 u. 342. — G. Smith, Zeitschr. f. analyt. Chem. **10**. 254. — Penzoldt, Virchow-Hirschs Jahresb. **1**. 148. 1884.

[3]) G. Hoppe-Seyler, Berl. klin. Wochenschr. 1886. 436; Zeitschr. f. analyt. Ch. **26**. 267.

[4]) H. Hildebrandt, Zeitschr. f. physiol. Ch. **36**. 441. 1902. — W. Caro, Arch. f. exp. Path. **46**. 242. 1901. — R. Luzzatto, Jahresb. f. Tierchem. **38**. 1094. 1908. — Fr. Knauth, Deutsche med. Wochenschr. **35**. 253. 1909. — Ed. Baumer, Med. Klin. **5**. 780. 1909.

Digitized by Google

direkte Nachweis kann nach Caro dadurch geführt werden, dass das Destillat des mit Salzsäure versetzten Harnes den eigentümlichen ambraartigen Geruch des Sandelöl zeigt.

Anilin. $C_6H_5NH_2$.

Nach Eingabe von Anilin erscheint ein kleiner Teil unverändert, während die Hauptmenge zu Para-amidophenol $[C_6H_4(NH_2)(OH)]$ wird, welches mit Schwefelsäure und Glycuronsäure gepaart zur Ausscheidung kommt (Fr. Müller, v. Engelhardt[1])).

Verhalten des Harnes. Der Harn ist rotbraun und linksdrehend. Nach Dragendorff[2]) nimmt Chloroform oder Amylalkohol aus dem mit Salzsäure behandelten Harn einen prachtvoll roten Farbstoff auf; manchmal ist der Auszug ungefärbt und wird erst an der Luft rot.

Nachweis des freien Anilin. Zum Nachweis des Anilins hat F. Müller den Harn, ohne Zusatz, destilliert oder bei schwach alkalischer Reaktion mit Äther ausgeschüttelt. Das Destillat (oder der Ätherauszug) gibt bei Gegenwart von Anilin einen Niederschlag mit Bromwasser und die Millonsche Reaktion, färbt einen mit Salzsäure befeuchteten Fichtenstab zitronengelb, wird durch Chlorkalk violett, durch Chlorkalk und wenig sehr verdünntes Schwefelammon rosenrot, auf Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure und wenig Kaliumdichromatlösung vorübergehend blau, ferner nach Ehrlich auf Zusatz von Kairinlösung, verdünnter Salzsäure und Kaliumnitrit prachtvoll blau.

Nachweis des Paramidophenols. 1. Zum Nachweis des Paramidophenols kocht man den Harn, um die Ätherschwefelsäure zu zersetzen, einige Minuten mit $\frac{1}{4}$ Volum starker Salzsäure und extrahiert entweder das Paramidophenol aus dem schwach alkalisch gemachten Harn mit viel Äther oder verwendet ihn ohne weiteres zu folgender (Indophenol-) Reaktion. Man versetzt den Harn nach dem Erkalten mit einigen Kubikzentimetern 3 %iger Phenollösung und fügt wenig verdünnte Chromsäurelösung (oder Chlorkalk, oder Eisenchlorid) hinzu. Bei Gegenwart von Amidophenol wird die Flüssigkeit rot und nach dem Übersättigen mit Ammoniak (das Filtrat) prachtvoll blau.

Nach E. Meyer[3]) lässt sich p-Amidophenol mit dieser Reaktion noch in einer Verdünnung von 1 : 1600000 leicht nachweisen.

2. Als Aminokörper lässt sich p-Amidophenol auch diazotieren. Der Rückstand des alkalischen Ätherextraktes (siehe oben) wird im Reagenzglas mit verdünnter HCl aufgenommen, mit 2 Tropfen Natriumnitritlösung, wie sie zur Anstellung der Ehrlichschen Diazoreaktion (siehe dort) verwandt wird, diazotiert und mit alkoholischer α-Naphthollösung versetzt. Auf Zusatz von Ammoniak bildet sich eine intensive, schönrote Farbe (E. Meyer).

Isolierung nach E. Meyer. Der mit HCl versetzte Harn wird auf dem Wasserbad eingeengt, mit Äther zur Entfernung etwa störender Säuren mehrmals ausgeschüttelt, mit Soda alkalisch gemacht und abermals wiederholt extrahiert. Das Extrakt wurde bei 40—50° abgedampft, der Rückstand mit Essigsäureanhydrid aufgenommen, eine Stunde auf dem Drahtnetz am Rückflusskühler bei 140° gekocht, das überschüssige Essigsäureanhydrid abdestilliert. Der Rückstand wird mit etwas Wasser und Tierkohle versetzt, ausgekocht und filtriert. Das Filtrat

---

[1]) Fr. Müller, Deutsche med. Wochenschr. 1887. 27. — R. v. Engelhardt, Dissert. Dorpat 1888.

[2]) G. Dragendorff, Chem. Zentralbl. 1887. 1382.

[3]) E. Meyer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 46. 497. 1905.

Digitized by Google

erstarrt krystallinisch. Das Diacetyl-p-amidophenol wird durch Umkrystallisieren aus Benzol gereinigt. Schmelzpunkt 150°. (E. Meyer.)

Man kann auch das Dibenzoyl-p-amidophenol (Schmelzpunkt 231°) darstellen. Der alkalische Ätherextrakt wird mit viel Pyridin aufgenommen und unter ständiger Abkühlung Benzoylchlorid eingetragen. Dabei tritt Rötung und Abscheidung von salzsaurem Pyridin ein. Das Reaktionsgemisch wird in viel kalte verdünnte Schwefelsäure getropft. Es scheidet sich eine braune krystallinische Masse aus. Die Benzoesäure wurde durch Äther entfernt. Der Rückstand wird wiederholt aus heissem Chloroform umkrystallisiert (E. Meyer).

Acetanilid.

Antifebrin = Acetylaminobenzol ($C_6H_5.NH - CO.CH_3$).

Das Acetanilid geht nicht als solches in den Harn über, ist also auch nicht zu suchen, sondern beim Menschen zum Teil als Acetyl-Paramidophenol-Ätherschwefelsäure $HO.SO_2 - O.C_6H_4.NH - CO.CH_3$, zum Teil als Paramidophenol- oder Acetylparamidophenol-Glycuronsäure (Mörner, Jaffé und Hilbert[1]) (siehe bei Glycuronsäure). Diese Verbindungen geben beim Kochen mit Salzsäure Paramidophenol, welches sich, wie angegeben, durch die Indophenolreaktion nachweisen lässt. Nach dem Gebrauch von Antifebrin entleerter Harn dreht wegen seines Gehalts an gepaarter Glycuronsäure links und reduziert alkalische Kupferoxydlösung. Er ist reich an Urobilin und deshalb gesättigt rotgelb.

Die Acetyl-p-Amidophenolschwefelsäure isolierte Mörner, indem er den zum Sirup eingedickten Harn mit 90 %igem Alkohol extrahierte. Dann wurde der alkoholische Extrakt mit ½ Volum Äther und mit einer längere Zeit erwärmten konzentrierten alkoholischen Oxalsäurelösung versetzt. Die Lösung wurde von dem Niederschlage abgehoben, mit Kaliumcarbonatlösung neutralisiert und auf dem Wasserbad eingetrocknet. Aus dem Rückstand wurde mit 99½ %igem Alkohol der Harnstoff und ein Teil des überschüssigen Kaliumäthyloxalats entfernt; dann wurde der Rückstand mit 96 %igem kochendem Alkohol extrahiert und heiss filtriert. Beim Erkalten scheidet sich eine molekulare Verbindung von Kaliumäthyloxalat mit dem Kaliumsalz der Ätherschwefelsäure aus. Durch wiederholtes Umkrystallisieren aus 96 %igem Alkohol wurde dieses Doppelsalz gereinigt.

Beim Kaninchen wird das Acetanilid nach Jaffé und Hilbert zum grossen Teil als p-Amidophenol mit Glycuronsäure und Schwefelsäure gepaart ausgeschieden. Beim Hund erscheint nach Jaffé und Hilbert im Gegensatz zu der Angabe von Cahn und Hepp[2]) auch kein freies Acetanilid, sondern die Hauptmasse wird in o-Oxycarbanil $C_6H_4\langle{}^{N}_{O}\rangle C(OH)$ verwandelt, das ebenfalls an Schwefelsäure und Glycuronsäure gebunden im Harn erscheint (siehe bei gepaarten Glycuronsäuren).

Phenacetin.

Phenacetin (Acetparaphenetidin, Acet-p-Amidophenetol, der Äthyläther des Acetanilids $CH_3.CO.HN\text{-}C_6H_4.O.C_2H_5$), Lactophenin ($CH_3CH(OH)CO.HN\text{-}C_6H_4.O.C_2H_5$) und Phenocoll (Glykokoll-Phenetidin, Amidoacetphene-

[1]) K. A. H. Mörner, Zeitschr. f. physiol. Chem. **13**. 12. 1889. — A. Jaffé und P. Hilbert, ebenda, **12**. 295. 1888.

[2]) Cahn und Hepp, Berl. klin. Wochenschr. 1887. Nr. 1. u. 2.

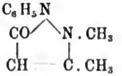
Digitized by Google

tidin, $H_2N.CH_2.CO.HN\text{-}C_6H_4.O.C_2H_5$). Nach dem Gebrauch von Phenacetin lässt sich, nach Fr. Müller, sowohl im Harn, wie im Ätherextrakt desselben Phenetidin (Para-Amidophenetol $H_2N.C_6H_4.O\,C_2H_5$) nachweisen. Dazu führt man es in die Diazoverbindung über, welche mit Naphthol eine schöne purpurrote, mit Phenol eine gelbe Verbindung gibt. Man versetzt den Harn im Reagenzglas mit 2 Tropfen Salzsäure und ebensoviel 1 %iger Natriumnitritlösung und fügt einige Tropfen einer wässerigen alkalischen β-Naphthollösung zu. Macht man die Mischung alkalisch, so wird sie rot, beim Ansäuern darauf violett. In gleicher Weise nimmt der Harn mit Phenol eine zitronengelbe Färbung an, die beim Ansäuern in rosenrot übergeht. Ein Teil des Phenacetins wird nach Mörner in Acetylparaamidophenol umgewandelt, das an Schwefelsäure (siehe bei Acetanilid) und Glycuronsäure gepaart wird. — Kocht man nach Mörner [1]) den Harn mit Salzsäure, so gibt er darnach eine schöne Indophenolreaktion. — Der Harn dreht nach Müller links, reduziert Kupferoxyd, gärt aber nicht, was auf die Gegenwart einer gepaarten Glycuronsäure zu beziehen ist; die linksdrehende Substanz wird nach Mörner auch durch Bleiessig und Ammoniak nicht gefällt und die Substanz, welche die Indophenolreaktion gibt, bleibt dabei in Lösung.

Lactophenin-Harn gibt nach Sternberg sowie v. Jaksch [2]) die Indophenolreaktion gleichfalls, sowie nach Strauss die Phenetidinreaktion. Andere Derivate des Phenetidins wie Phenokoll, Kryofin, Apolysin, Amygdophenin verhalten sich ebenso.

Nach Einführung von Phenokoll nimmt der Harn nach Mosso und Faggioli [3]) sehr bald auf Zusatz einiger Tropfen Natriumhypobromitlösung eine rubinrote Farbe an.

Antipyrin (Phenyldimethylpyrazolon) $C_9H_6N_2O(CH_3)_2$.



Nach der Zufuhr von Antipyrin ist die Ätherschwefelsäure des Harns vermehrt, besonders nach grossen Gaben (F. Müller), beim Hunde mehr als beim Menschen (Cahn, Umbach). Zum Teil geht das Antipyrin noch unverändert in den Harn über (Jonescu). Beim Hunde findet sich auch eine gepaarte Glycuronsäure. Wahrscheinlich handelt es sich um ein Oxyantipyrin, das die Paarungen eingeht (Lawrow). Der Harn ist meist dunkel, besitzt aber kein Drehungsvermögen und reduziert nach dem Kochen mit Salzsäure nicht (Cahn). Der Harn färbt sich mit Eisenchlorid braunrot und behält diese Färbung auch beim Kochen (Alexander). Zusatz von Säure hebt aber die Färbung auf. Äther entzieht dem angesäuerten Harn eine Substanz, welche sich mit Eisenchlorid braun färbt (v. Jaksch [4])). Kocht man den Harn mit Salzsäure, neutralisiert ihn mit Natronlauge und destilliert, so lässt sich nach Fr. Müller im Destillat Antipyrin (mit salpetriger Säure) nachweisen. Um das freie Antipyrin nachzuweisen, schüttelt man den

---

[1]) Fr. Müller, Therap. Monatsh., August 1888; Jahresb. f. Tierch. 1888. 149. — K. A. H. Mörner, Hygiea, Festbd. 1889; Jahresb. f. Tierch. 1889. 80.

[2]) C. Sternberg, Allg. Wiener med. Zeitung 1894. 369; Jahresb. f. Tierch. 1896. 64. — v. Jaksch, Zentralbl. f. inn. Med. 11. 1894. — H. Strauss, Therap. Monatsh. 8. 442. 1894.

[3]) U. Mosso und F. Faggioli, Arch. f. exp. Path. **32**. 432. 1893.

[4]) Fr. Müller, Zentralbl. f. klin. Med. 36. 1884. — A. Cahn, Berl. klin. Wochenschr. 36. 1884. — C. Umbach, Arch. f. exp. Path. **21**. 163. 1886. — Alexander, Bresl. ärztl. Zeitschr. 11. 1884. — v. Jaksch, Zeitschr. f. klin. Med. 8. 551. 1884. — D. Lawrow, Ber. d. chem. Gesellsch. **33**. 2344. 1900.

Digitized by Google

angesäuerten Harn nach Blumenbach erst mit Petroläther, dann, nach dem Übersättigen mit Ammoniak, mit Chloroform (oder Benzol, oder Amylalkohol) und verdunstet das Lösungsmittel. Zuweilen ist der Harn dichroitisch (rot im durchfallenden, grün im reflektierten Licht.

Jonescu[1]) isoliert das Antipyrin in folgender Weise:

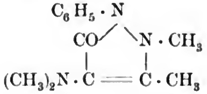
Der Harn wird auf ein kleines Volum eingeengt, dann mit Schwefelsäure angesäuert und mit Kaliumwismutjodidlösung versetzt. Hierbei fällt neben Purinbasen das Antipyrin aus. Der Niederschlag wird durch Verreiben mit Silbercarbonat zerlegt. Dann wird filtriert, das Filtrat durch Schwefelwasserstoff vom Silber befreit und dann bei alkalischer Reaktion mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt. Der Chloroformrückstand wird durch Umkrystallisieren aus Wasser und Benzol gereinigt.

Eigenschaften des Antipyrin. Antipyrin bildet aus Wasser krystallisiert grosse monokline Krystalle, aus Äther krystallisiert glänzende Blättchen, vom Schmelzpunkt 113°. Es ist leicht löslich in Wasser, Chloroform, Alkohol, schwer in Äther, Toluol, Ligroin. Antipyrin wird durch Alkaloidreagentien gefällt, z. B. durch Tanninlösung als starke weisse Fällung niedergeschlagen (Blumenbach, Schweissinger[2]).

Eine Lösung von Antipyrin in verdünnter Essigsäure färbt sich beim Versetzen mit Natriumnitritlösung grün. Bei genügender Konzentration scheidet sich Nitrosoantipyrin als grüner Krystallniederschlag aus. Wässerige Antipyrinlösungen 1 : 100 000 färben sich mit Eisenchloridlösung noch tiefbraun; die Färbung ist bei neutraler Reaktion besser als bei saurer Reaktion.

Erwärmt man eine Antipyrinlösung mit konzentrierter Schwefelsäure und etwas rauchender Salpetersäure, so tritt Rotfärbung ein.

Pyramidon-Dimethylaminantipyrin $C_{11}H_{11}N_2O . N(CH_3)_2$.



Pyramidon geht nicht selbst in den Harn über. Es finden sich aber Derivate und zwar Rubazonsäure sowie Antipyrylharnstoff.

1. Rubazonsäure. Wiederholt ist beim Menschen nach Pyramidongebrauch das Auftreten einer kirschroten Färbung, sowie auch eines roten krystallinischen Sedimentes beobachtet worden (Gregor, Hoffmann, Jaffé[3]), identifizierte in Versuchen am Hund als Rubazonsäure. Im Menschenharn ist diese Rubazonsäure wenigstens in manchen Fällen präformiert. Im Hundeharn ist zunächst Phenylmethylaminopyrazolon vorhanden, aus diesem entsteht erst nach dem Ansäuern durch Oxydation mit Luftsauerstoff die Rubazonsäure.

Eigenschaften. Rubazonsäure $C_{20}H_{17}N_5O_2$ wurde von Knorr[4]) dargestellt aus Phenylmethylaminopyrazolonchlorhydrat durch Oxydation an der Luft. Sie bildet rote Krystallnadeln vom Schmelzpunkt 184°, die in Wasser und verdünnten Säuren unlöslich, in Weingeist schwer löslich, leicht löslich in Essigäther,

[1]) D. Jonescu, Ber. d. pharmazeut. Gesellsch. **16**. 133. 1905.

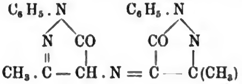
[2]) Blumenbach, Diss. Dorpat. 1885. — Schweissinger, Zeitschr. f. analyt. Ch. **24**. 468. 1885.

[3]) K. Gregor, Therap. Monatsh. **14**. 298. 1900. — Hoffmann, Arch. internat. de Pharmacodynamie **6**. 171. 1891. — M. Jaffé, Ber. d. chem. Gesellsch. **34**. 2739. 1901 u. **35**. 2891. 1902.

[4]) L. Knorr, Annal. d. Chem. **238**. 192. 1887.

Digitized by Google

Chloroform, Benzol, Eisessig sind. In Alkali und Ammoniak lösen sie sich mit purpurroter Farbe.



Darstellung nach Jaffé aus Hundeharn. Der Hundeharn wird in weiten offenen Gefässen nach Ansäuern mit Salzsäure sich selbst überlassen. Der Niederschlag wird mit Ammoniak übergossen und so lange mit Essigäther ausgeschüttelt als noch Farbstoff aufgenommen wird. Der Farbstoff geht als Ammoniakverbindung in den Essigäther und hinterbleibt beim Abdestillieren als ammoniakfreier Farbstoff in prachtvollen roten Nadeln.

Die Menge der ausgeschiedenen Rubazonsäure beträgt beim Hund etwa 3 % des eingegebenen Pyramidon.

2. Ebenfalls durch Entmethylierung entsteht Antipyrylharnstoff. Es erscheinen etwa 6 % des verfütterten Pyramidon im Hundeharn (Jaffé).

Eigenschaften. Antipyrylharnstoff = Uramidoantipyrin, bildet in Wasser lösliche farblose Krystalle vom Schmelzpunkt 247—248° (Knorr und Stolz [1])). Er ist in Alkohol schwer löslich. Die wässerige Lösung färbt sich mit Eisenchlorid violett. — Beim Erhitzen mit Millonschem Reagens färbt sie sich zuerst gelb, später rot, unter Bildung eines roten Niederschlages.

Darstellung nach Jaffé. Die von der Rubazonsäure abgetrennte saure Harnflüssigkeit wird mit Natriumcarbonat schwach alkalisch gemacht und eingeengt. Der Rückstand wird wiederholt mit Ätheralkohol ausgezogen, der Ätheralkohol wird abdestilliert, die hinterbleibende Krystallmasse in 5 %iger Schwefelsäure gelöst und mit Phosphorwolframsäure gefällt. Der Niederschlag wird mit Barythydrat zerlegt, der Barytüberschuss durch Kohlensäure entfernt und die Flüssigkeit bei 30—40° im Vakuum eingeengt. Der erhaltene Syrup erstarrt bald zur Krystallmasse. Die Krystallmasse wird mit Aceton versetzt, dabei fällt Kreatinin aus, während der Antipyrylharnstoff in Lösung geht. Das Aceton wird verdampft, der Rückstand kann noch aus Wasser umkrystallisiert werden.

Ausser diesen beiden Stoffen fand Jaffé noch eine nicht isolierbare Glycuronsäure im Hundeharn.

Nitrobenzol.

Nitrobenzol führt zu Fabrikvergiftungen und wird auch als Abortivmittel benutzt. Der Harnbefund ist von Mering sowie von E. Meyer [2]) beschrieben. Der Harn riecht nach Nitrobenzol. Durch Destillation mit Wasserdämpfen bei saurer Reaktion lässt sich das Nitrobenzol gewinnen. Mit Eisenchlorid entsteht eine intensiv braunrote Färbung (p-Amidophenol). Der Harn reduziert Kupfersulfat in alkalischer Lösung nicht direkt, sondern erst nach Kochen mit konzentrierter Salzsäure. Die reduzierende Substanz gärt nicht; es besteht Linksdrehung. Es handelt sich also um Ausscheidung einer gepaarten Glycuronsäure. Ferner lässt sich im Harn das auch nach Anilinvergiftung auftretende p-Aminophenol (siehe dort) nachweisen und zwar in dem Fall von E. Meyer noch 12 Tage lang.

Auch bei Kaninchen liess sich nach Eingabe von 0,5—0,7 g per os Nitrobenzol und p-Amidophenol nachweisen.

Zum Nachweis des Nitrobenzol wird dasselbe erst bei saurer Reaktion mit Wasserdämpfen ausgetrieben. Dabei wird eine ölige, stark riechende Flüssigkeit

[1]) L. Knorr und F. Stolz, Annal. d. Chem. **293**. 58. 1896.

[2]) J. v. Mering, Zentralbl. d. med. Wissensch. 1875. 945. — E. Meyer, Zeitschr. f. physiol. Chem. **46**. 497. 1906.

Digitized by Google

erhalten. Bei Reduktion dieser Lösung mit Zink und Schwefelsäure wird Anilin erhalten, das in der Flüssigkeit vor der Reduktion nicht vorhanden ist. Über die Identifizierung des Anilin siehe dort.

Alkaloide.

Tanret[1]) sowie Bouchardat und Cadier empfehlen zum Nachweis der Alkaloide im Harn überhaupt eine mit Essigsäure angesäuerte Lösung von Jodquecksilberkalium. Das Reagens gibt zwar auch mit anderen Bestandteilen normaler und pathologischer Harne Niederschläge, der Alkoholniederschlag unterscheidet sich von diesen aber durch seine Löslichkeit in Alkohol und in der Wärme.

I. Chinin $C_{20}H_{24}N_2O_2$.

A. Vorkommen. Chinin geht unverändert in den Harn über (Schmitz, Nishi, Giemsa u. Schaumann, Mariani, Katz, Grosser)[2]). Die Ausscheidung beginnt schon nach kurzer Zeit (15 bis 30 Minuten). Bei einmaliger Dosis werden etwa 10—40% unverändert ausgeschieden. Es erscheint die Hauptmenge innerhalb 24 Stunden. Nach vier Tagen ist die Ausscheidung beendigt. Bei fortgesetztem Gebrauch von Chinin bleibt die Ausscheidung ziemlich gleichmässig (etwa 20—30%). Die Ausscheidung ist am stärksten bei innerlicher Darreichung, schwächer bei subkutaner, am schwächsten bei intramuskulärer Applikation.

Für den Hund hatte Merkel[3]) angegeben, dass er kein unverändertes Chinin im Harn ausscheide. Katz hat diese Angabe widerlegt.

Umwandlungsprodukte des Chinin sind im Harn mit Sicherheit nicht nachgewiesen, insbesondere hat Schmitz vergeblich nach Dihydroxylchinin gesucht. Merkel will aus Hundeharn ein Umwandlungsprodukt des Chinins isoliert haben.

B. Eigenschaften. 1. Chinin ist in Wasser wenig löslich. Die wasserfreie Base erfordert 1960 Teile Wasser, das Hydrat der Base 1670 Teile Wasser von 15° zur Lösung. In heissem Wasser ist die Löslichkeit etwas grösser. Alkohol, Chloroform, Äther, Schwefelkohlenstoff lösen Chinin leicht, Benzol weniger gut. Die Lösungen des Chinin sind linksdrehend. Aus heissem Benzol lässt es sich mit Vorteil umkrystallisieren.

---

[1]) Tanret, Journ. de pharm. et de chimie [5] **28**. 433 u. 490; Chem. Zentralbl. **1**. 109. u. 111. 1894.

[2]) G. Giemsa und H. Schaumann, Beiheft z. Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. **11**. 1907. — P. Grosser, Bioch. Zeitschr. **8**. 48. 1907. — R. Schmitz, Arch. f. exp. Path. **56**. 301. 1907; siehe auch Dissert. Bern 1906. — Mariani, Atti della società per gli studi della Malaria. 1903 u. 1904. — A. Nishi, Arch. f. exp. Path. **60**. 312. 1909. — J. Katz, Biochem. Zeitschr. **36**. 146. 1911. — G. Giemsa, ebenda, **38**. 161. 1912.

[3]) Merkel, Arch. f. exp. Path. **47**. 165. 1902.

Digitized by Google

2. Das Chinin fällt aus seinen Salzlösungen durch Alkali amorph und wasserfrei aus, aber es geht bald in den krystallisierten Zustand über und bildet ein Hydrat mit drei Mol. Krystallwasser.

3. Das krystallinische Chininhydrat ($C_{20}H_{24}N_2O_2 + 3H_2O$) ist farblos, schmeckt sehr bitter, schmilzt bei 57° und verliert das Wasser beim Stehen über Schwefelsäure und beim Erhitzen auf 120°. Dieses wasserfreie Chinin schmilzt bei 173°.

4. Chinin in schwefelsaurer Lösung fluoresziert blau. Die Fluoreszenz wird durch Halogenwasserstoffsäuren, durch Hyposulfite, auch Phenacetin (Sestini und Campani[1]) aufgehoben bezw. beeinträchtigt. Phenacetin geht aber nicht als solches in den Harn über (siehe dort).

5. Versetzt man eine Chininlösung mit Chlorwasser oder Bromwasser und dann mit Ammoniak, so entsteht eine intensiv smaragdgrüne Farbe, die sogen. Thalleiochinreaktion (Brandes u. Leber). Bei genauem Neutralisieren mit einer Säure geht die Farbe ins Himmelblaue und durch einen Überschuss von Säure ins Violette bis Rote über. Bei sehr kleinen Mengen Chinin verwendet man zweckmässig Bromwasser statt Chlorwasser. Es lassen sich $^1/_{20000}$ Chinin so nachweisen (Flückiger[2]).

6. Wird neutrales Chininsulfat mit etwas Wasser übergossen und hierzu starkes, salzsäurefreies Chlorwasser gebracht, bis eine gelbliche Färbung entsteht, so zeigt sich auf Zusatz von gepulvertem Ferrocyankalium zuerst eine hellrosenrote Färbung, die auf Zusatz von mehr Ferrocyankalium tief dunkelrot wird.

7. Herapathitreaktion. Setzt man zu etwas Chinin auf dem Objektträger einen Tropfen einer Lösung, welche 12 g Essigsäure, 4 g Alkohol, 6 Tropfen verdünnte Schwefelsäure enthält, und bringt dazu mit einer ausgezogenen Glasröhre ein Tröpfchen Jodlösung in Alkohol, so entsteht sogleich eine zimmetbraune Färbung, bedingt durch eine Jodchininverbindung, und später erhält man das durch seine Polarisationserscheinungen merkwürdige schwefelsaure Jodchinin, welches man unter dem Mikroskop erkennt. Das schwefelsaure Jodchinin, $4C_{20}H_{24}N_2O_2$, $3H_2SO_4$, $2HJ$, $2J_2 + 6H_2O$, krystallisiert in äusserst dünnen Platten, die im durchfallenden Licht blass olivengrün, im auffallenden metallglänzend, canthandengrün erscheinen. Ihr Polarisationsvermögen ist so stark, dass man sie statt der Turmalinplatten anwenden kann. Zwei Platten, so dünn wie Blattgold, lassen, sobald sie sich unter einem rechten Winkel kreuzen, gar kein Licht mehr durch (Herapath[3]).

C. Nachweis. Der Nachweis beruht auf der Isolierung des Chinin. Die Nachweismethoden lassen sich vielfach auch zur Schätzung

[1]) F. Sestini und R. Campani, L'Orosi 14. 305. Chem. Zentralbl. 1. 184. 1892.

[2]) Brandes und Leber, Annal. d. Chem. 32. 270. 1839. — Flückiger, Zeitschr. f. analyt. Chem. 11. 318. 1872.

[3]) Herapath, Journ. f. prakt. Chem. 61. 87. 1853.

Digitized by Google

der Chininmenge benutzen. Wirklich quantitativ brauchbar soll die Methode von Katz sein (s. dort).

1. Zum Nachweis des Chinins im Harn macht Vitali[1]) (nicht zu kleine Mengen) Harn mit Ammoniak alkalisch und schüttelt ihn mit Äther aus. Der Auszug wird nach Zusatz eines Tropfens Salzsäure ver-

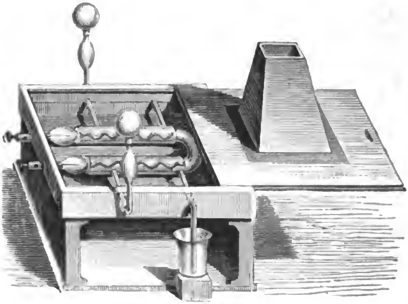


Fig. 48.

dunstet, der Rückstand in Wasser gelöst, die Lösung nochmals mit Ammoniak und Äther behandelt und der beim Verdunsten der ätherischen Lösung nun bleibende Rückstand zum Nachweis verwendet.

Nach Herapath[2]) macht man den Harn durch etwas Kali alkalisch, schüttelt mit Äther und lässt den Äther verdunsten.

2. Nach Personne[3]) fällt man den Harn mit Tannin, wäscht den Niederschlag aus, presst ihn ab, mischt ihn mit Ätzkalk und bringt die Mischung im Wasserbad zur Trockne. Der Rückstand wird mit Sand verrieben und (in einem Extraktionsapparat) mit Chloroform erschöpft. Wird das Chloroform von dem Auszug abdestilliert, so bleibt das Chinin vermengt mit harziger Substanz zurück; verdünnte Schwefelsäure nimmt in der Wärme das Chinin auf und lässt die harzige Substanz ungelöst zurück.

3. Nach Binz[4]) lässt sich durch eine Lösung von 2 Teilen Jod und 1 Teil Jodkalium in 40 Teilen Wasser noch 1 g Chinin in 40 bis 50 Liter Harn entdecken.

---

[1]) Vitali, Journ. de chim. méd. 1874. 210.

[2]) Herapath, Journ. f. prakt. Ch. **61**. 87. 1853.

[3]) Personne, Bull. de l'Acad. de méd. 35. 1878; Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1879. 110.

[4]) Binz, Zeitschr. f. analyt. Ch. **9**. 538.

Digitized by Google

4. Kerner verwendet zum Nachweis des Chinins im Harn seine Fluoreszenz. Nach Kerners Versuchen lässt es sich selbst noch bei zweimillionenfacher Verdünnung nachweisen. Da jedoch das vorhandene Chlornatrium die Fluoreszenz aufhebt, so muss das Chlor zunächst entfernt werden, was am zweckmässigsten durch eine konzentrierte Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxydul geschieht. Man versetzt 25 bis 50 ccm Harn so lange mit dem Reagens, bis kein Niederschlag mehr entsteht und ein kleiner Überschuss vorhanden ist, filtriert und wäscht den Niederschlag aus. Von der ursprünglichen Harnfarbe ist höchstens noch ein lichtgelber Schein übrig und wenn nicht allzu kleine Mengen Chinin vorhanden sind, nimmt man schon während der Filtration bei Tageslicht die Fluoreszenz wahr. Füllt man jedoch die Flüssigkeit in das Fig. 48 abgebildete, von Kerner konstruierte Fluoreskop, so wird man, sobald der Induktionsstrom durch die Geisslersche Fluoreszenzröhre geht und man bei geschlossenem Deckel durch den pyramidalen Trichter beobachtet, noch bei zweimillionenfacher Verdünnung die Fluoreszenz aufs schönste eintreten sehen. Zum Vergleich füllt man zweckmässig nur den einen Schenkel der U-förmigen Röhre mit der Harnflüssigkeit, den anderen mit Wasser. Noch empfindlicher fällt die Reaktion aus, wenn man die Harnflüssigkeit vor der Prüfung vollständig entfärbt, was am einfachsten durch Einleiten einiger Blasen Schwefelwasserstoff zu erreichen ist, indem das ausfallende Quecksilbersulfür den letzten Rest von Farbstoff einschliesst. Immer noch sehr deutlich aber minder scharf ist die Fluoreszenz nach Flückiger[1]) zu erkennen, wenn man mit einer Lupe einen Lichtkegel auf die in einem Reagenzglas befindliche Lösung fallen lässt.

D. Bestimmung des Chinins.

1. Bestimmung des Chinins nach Katz[2]).

A. Prinzip der Methode. Das Chinin wird dem Harn durch Ausschütteln mit Chloroformäther entzogen. Um eine Emulsionsbildung beim Schütteln zu vermeiden, wird das Ausschütteln in einem mit reichlich Ammoniumsulfat versetzten Harn vorgenommen. Diese „Ammoniumsulfatmethode“ wird von Katz ganz allgemein empfohlen, wenn es sich darum handelt, schleim- oder eiweisshaltigen Flüssigkeiten, die zur Emulsionsbildung neigen, irgend eine Substanz durch Ausschütteln mit Äther, Chloroform etc. zu entziehen. Man kann derartige salzreiche Flüssigkeiten auch mit Alkohol oder Methylalkohol ausschütteln, wobei eine Trennung in eine salzreiche wässerige Schicht und eine alkoholische Schicht bestehen bleibt. Giemsa hat eine ähnliche Ammoniumsulfatmethode schon früher zur Bestimmung des Chinins in der Milch angewandt.

Das so isolierte Chinin wird durch Eindampfen in alkoholischer Lösung unter Zusatz von Salzsäure in das zweisäurige Salz verwandelt, die überschüssige Säure wird durch Kochsalz verflüchtigt und in dem erhaltenen zweisäurigen Salz die Säure in alkoholischer Lösung mit alkoholischer Kalilauge unter Verwendung von Poirriers Blau titriert.

Nach Katz besitzt die Methode eine hohe Genauigkeit. In einem Versuch wurde aus 200 ccm Hundeharn von 0,245 g Chininum purum, die zugesetzt waren, 100,6 %, in einem anderen Fall von 0,165 g aus 210 ccm Harn 97,9 % wiedergefunden. Die Methode ist von Katz eingehend begründet und wird von ihm für genauer und zuverlässiger erklärt als alle anderen.

B. Ausführung. 400 ccm Harn, die durch ein in einem Trichter befindliches lockeres Wattebäuschchen filtriert sind, werden in einem

[1]) Kerner, Pflügers Arch. 2. 230 u. 238; Zeitschr. f. analyt. Ch. 9. 134. A. Flückiger, Zeitschr. f. analyt. Ch. 1. 373.

[2]) J. Katz, Biochem. Zeitschr. 36. 147. 1911. — Pharmaz. Zentralh. 1901. 285.

Digitized by Google

weithalsigen Erlenmeyer-Kolben mit 200 g Ammoniumsulfat und 10 ccm Essigsäure (30%ig) versetzt und unter Umrühren auf dem Wasserbad erwärmt, bis sich das Ammoniumsulfat vollständig gelöst hat. Man lässt die Mischung erkalten, bringt sie in einen grossen, wenn möglich zylindrischen Scheidetrichter, macht sie mit Ammoniak (20 bis 25 ccm 10%igen Salmiakgeist) stark alkalisch und schüttelt sofort mit 150 ccm einer Mischung aus 1 Teil Chloroform und 3 Teilen Äther aus. Die Ausschüttelung wird zweimal mit je 50 ccm obiger Mischung wiederholt. Die Chloroformätherextrakte werden filtriert, eventuell unter Zusatz von etwas gebrannter Magnesia, falls Farbstoffe in den Chloroformätherextrakt übergegangen sind; man destilliert den Chloroformäther zur Trockne ab.

Den Rückstand löst man durch vorsichtiges Erwärmen auf dem Wasserbad in 10 ccm einer etwa 10%igen Schwefelsäure und lässt erkalten. Dann filtriert man in einen kleinen Scheidetrichter, wäscht das Filter zweimal mit 5—10 ccm Wasser nach, macht mit Natronlauge stark alkalisch und schüttelt nacheinander mit 50 ccm und zweimal mit 25 ccm Chloroformäther aus. Die Extrakte werden wieder unter Zusatz von etwas gebrannter Magnesia filtriert und der Chloroformäther bis auf etwa 1 ccm abdestilliert. Der Rückstand wird dreimal mit 3 ccm Alkohol in ein Schälchen gespült, mit 10 Tropfen offizineller Salzsäure und 20 Tropfen 25%iger Kochsalzlösung versetzt und auf dem Wasserbad zur Trockne verdampft. Gegen Ende des Verdampfens sorgt man durch fleissiges Schwenken des Schälchens dafür, dass sich das Kochsalz als feines Krystallmehl und nicht in grossen Krystallen absetzt und dass die Masse sich möglichst dünn auf dem Boden des Schälchens verteilt. Darauf spült man die an den Wänden des Schälchens befindliche Masse mit Hilfe der Spritzflasche mit Alkohol an den Boden der Schale und dampft unter fleissigem Umschwenken wiederum ein. Der trockne Rückstand bleibt noch $^1/_4$ Stunde auf dem Wasserbade oder besser im Wassertrockenschrank stehen. Darauf löst man die Masse in etwas Alkohol und spritzt sie mitsamt dem ungelösten Kochsalz in einen kleinen Erlenmeyer-Kolben, ergänzt die Flüssigkeit mit Alkohol auf etwa 25 ccm, setzt 5 Tropfen einer 0,3%igen Lösung von Poirriers Blau hinzu und titriert mit einer alkoholischen $n/_{10}$-Kalilauge, die man sich ex tempore durch Mischen von 10 ccm n-Kalilauge mit absolutem Alkohol ad 100 ccm hergestellt hat, bis die Blaufärbung in eine schwach Rosafärbung übergegangen ist. Die verbrauchten Kubikzentimeter $n/_{10}$-Kalilauge mit 0,0162 multipliziert, ergeben die vorhandene Menge Chinin (Molekulargewicht des Chinins = 324).

Digitized by Google

2. Bestimmung nach Schmitz. Schmitz benutzte das von Kleine angegebene Verfahren zur Isolierung. Bestimmte dann aber nicht wie Kleine durch Wägung, sondern titrimetrisch nach der Cordinschen[1]) Alkaloidbestimmungsmethode.

200—300 ccm Harn werden mit Schwefelsäure angesäuert und mit gepulverter Pikrinsäure im Überschuss versetzt. Nach eintägigem Stehen wird der Niederschlag abfiltriert und zwar, falls das Filtrat trüb ist, unter Zusatz von etwas Eiweiss. Filter mit Niederschlag werden in einem Kolben mit 3%iger Kalilauge digeriert und die erhaltene Lösung zweimal mit Chloroform ausgeschüttelt. Das Chloroform wird verdunstet, der Rückstand in 30 ccm $^1/_{20}$-n-Schwefelsäure unter Erwärmen gelöst, die Lösung quantitativ in ein 100 ccm-Kölbchen gebracht und Jodjodkaliumlösung (1 Teil J, 1,5 Teil KJ, Wasser ad 100) hinzugegeben, bis die Fällung vollständig ist, und dann auf 100 ccm aufgefüllt. Man filtriert genau 50 ccm des Filtrates ab, entfärbt durch einige Tropfen 10%ige Thiosulfatlösung und titriert die überschüssige Säure zurück. Schmitz fand, dass 1 ccm der $^1/_{20}$-Schwefelsäure 0,00885 g Chinin entsprach.

Schmitz fand in Kontrollversuchen mit bestimmten zum Harn zugegebenen Chininmengen nur eine Fehlergrenze von 1,4 bzw. 2,5 %. Katz[2]) hält trotzdem die Methode für ungenau namentlich bei der Bestimmung kleiner Alkaloidmengen, da durch das Filtrierpapier und den voluminösen Niederschlag Säure adsorbiert wird.

3. Verfahren von Nishi[3]). Der Harn wird sehr stark alkalisch gemacht und im Extraktionsapparat ca. 25—30 Stunden mit Äther extrahiert. Das Ätherextrakt wird verdampft, der Rückstand in wasserfreiem Äther aufgenommen, filtriert und das Filtrat mit einer Lösung von wasserfreier Zitronensäure in wasserfreiem Äther versetzt, bis alles Chinin als saures Chinincitrat gefällt ist. Der Niederschlag wird durch Asbeströhrchen abfiltriert, vom Äther durch gelindes Trocknen befreit und gewogen. Dem Chinincitrat schreibt Nishi auf Grund von Versuchen mit reinem Chinin die Formel $C_{20}H_{24}N_2O_2 . C_6H_8O_7$ zu.

Nach Nihsi werden nach seiner Methode 99—101 % von zugesetztem Chinin wiedergewonnen.

Die Methode ist, wie Katz hervorhebt, keinesfalls bequem zu handhaben. Katz bezweifelt, ob eine Extraktion stark alkalischer Harne ohne störende Emulsionsbildung stets möglich sei.

4. Verfahren von Kerner. Kerner fällte das Chinin aus dem mit Salpetersäure angesäuerten Harn mit Phosphorwolframsäure, zersetzte den Niederschlag mit Barytwasser, extrahierte mit kochendem Alkohol, behandelte das Filtrat mit Kohlensäure, dampfte das barytfreie Filtrat zur Trockne, löste den Rückstand

---

[1]) F. K. Kleine, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 38. 548. 1901. — H. M. Cordin, Ber. d. chem. Gesellsch. 32. 2873. 1899. — R. Schmitz, Arch. f. exp. Path. 56. 301. 1907; Dissert. Bern 1906.

[2]) J. Katz, Biochem. Zeitschr. 36. 147. 1911. — Pharm. Zentralbl. 1901. 285.

[3]) M. Nihsi, Arch. f. exp. Path. 60. 312. 1909.

Digitized by Google

in verdünnter Essigsäure und fällte die freie Base mit Natronlauge aus. Grosser [1]) benutzt ebenfalls die Fällung mit Phosphorwolframsäure, verreibt den Niederschlag mit Barythydrat und Tierkohle, trocknet vorsichtig und extrahiert aus dem trockenen Pulver das Chinin mit Chloroform. Auch gegen dieses Verfahren erhebt Katz gewichtige Bedenken. — Auch noch andere Alkaloidfällungsmittel haben gelegentlich (Kerner) Verwendung gefunden.

5. Verfahren von Mariani. Der eingeengte Harn wird mit Alkali gefällt, der Niederschlag mit Äther ausgeschüttelt; der Ätherrückstand in Schwefelsäure gelöst, Farbstoffe mit Äther entfernt, die Lösung wieder mit Alkali gefällt, ausgeäthert, der Ätherrückstand gewogen. Nach Grosser [2]) lässt sich jedoch Chinin nicht quantitativ mit Alkali fällen.

II. Cinchonin.

Cinchonin. Die sauren Salze des Cinchonin geben mit Ferrocyankalium einen amorphen Niederschlag, der sich beim Erwärmen löst und sich beim Erkalten in Form goldgelber, keilförmig zugespitzter Prismen wieder ausscheidet (Bil). Nach dieser Methode hat Seligsohn [3]) Cinchonin im Harn nachgewiesen.

Hildebrandt [4]) benutzte zum Nachweis des Cinchonin dessen Fällbarkeit durch Natronlauge. Beim Cinchonin tritt die Ausfällung im Gegensatz zu dem Chinin sofort ein.

III. Chinolinharne.

Chinolin geht nicht als solches in den Harn über. Nach Eingabe von Chinolin und Chinolinderivaten zeigt der „Chinolinharn" nach Fühner [5]) bei Kaninchen ein eigentümliches Verhalten. Der frisch gelassene Harn wird mit konzentrierter Salzsäure (1 Teil auf 2—3 Teile Harn) gekocht, bis Dunkelfärbung eintritt. Nach dem Abkühlen wird Ammoniak im Überschuss hinzugegeben. Die Flüssigkeit färbt sich beim Schütteln von der freien Oberfläche aus erst gelbgrün, später blaugrün. Allmählich bildet sich ein dunkler Niederschlag und nach eintägigem Stehen ist die Grünfärbung meist verschwunden. Chloroform nimmt die grüne Farbe z. T. auf. Der Harn von Hunden zeigt nach Chinolingabe das gleiche Verhalten, ebenfalls der Harn des Menschen in einem Versuch (Fühner).

Schöner bekommt man die Reaktion, wenn man das die Reaktion bedingende Chinolinprodukt erst isoliert. 200 ccm Harn werden mit 50 ccm konzentrierter Salzsäure auf dem Wasserbad etwa zur Hälfte eingedampft. Man versetzt dann mit Natronlauge unter sorgfältiger Vermeidung alkalischer Reaktion, bis die Flüssigkeit schwach sauer oder neutral reagiert, filtriert, wäscht das Filter mit etwas Alkohol nach und schüttelt die erkaltete Flüssigkeit mit etwas Äther aus. Der Äther wird einige Mal mit etwas destilliertem Wasser gewaschen und dann mit stark verdünnter Salzsäure geschüttelt. Die Salzsäure nimmt hierbei intensiv gelbe Färbung an, während der überstehende Äther carminrot erscheint. Ver-

[1]) G. Kerner, Pflügers Arch. 2. 200. 1869. — P. Grosser, Biochem. Zeitschr. 8. 98. 1907. — J. Katz, l. c.

[2]) Mariani, Atti della società per gli studi della Malaria 1903 und 1904. — P. Grosser, Biochem. Zeitschr. 8. 100. 1908.

[3]) M. Seligsohn, Med. Zentralzeitg. 17. 1861.

[4]) H. Hildebrandt, Arch. f. exp. Path. 59. 127. 1908.

[5]) H. Fühner, Arch. f. exp. Path. 55. 27. 1906; Ber. d. chem. Gesellsch. 38. 2713. 1905.

Digitized by Google

dünnt man einige Tropfen der gelbgefärbten Salzsäure mit Wasser und versetzt nunmehr mit Ammoniak, so tritt Grünfärbung auf, welche unter Einwirkung der Luft rasch in reines Blau übergeht. Bei längerem Stehen bilden sich dunkelblaue Flocken, die sich zu Boden setzen. Diese lösen sich abfiltriert in Alkohol mit blauer, in Mineralsäuren mit braunroter oder carminroter Farbe.

Die Reaktion rührt wahrscheinlich von der Anwesenheit von 5,6-Chinolinchinon her, welches in dem frischen Harn mit Glycuronsäure oder mit Schwefelsäure gepaart ist.

Frisch gelassener Kaninchenharn ohne Vorbehandlung mit Säure zeigt die Reaktion nicht.

IV. Morphium.

A. Vorkommen. Morphin lässt sich nach Morphingaben mit Sicherheit sowohl beim Menschen als auch bei Tieren im Harn nachweisen. (Literatur siehe bei Heffter.) Aber auch nach grossen Dosen ist die Ausscheidung durch den Harn nur gering. Marquis fand bei einem Morphinisten, der täglich 1,2—1,35 g subkutan bekam, einmal 0,0011 g, ein anderes Mal 0,007 g. Katzen schieden nach intravenöser Eingabe von 0,06 g 0,002—0,003 g im Harn aus. Im Gegensatz hierzu will van Rijn[1]) bei einem Kaninchen, dem erst 0,1 g per os und nach $2^1/_2$ Stunden 0,1 g subkutan gegeben waren, innerhalb 6 Stunden 0,0703 g Morphin, mehr als die Hälfte der im ganzen Körper wiedergefundenen Menge, aufgefunden haben. — Ein grosser Teil des Morphin verlässt den Körper im Kot (Tauber, Faust[1]).

Dragendorff konnte nach dem Verfahren von Dragendorff und Kauzmann noch sehr kleine Mengen Morphin im Harn nachweisen, Schneider bei Tieren solches noch nach innerlicher oder subkutaner Anwendung von 0,03 bis 0,01 g. Beim Menschen mit gesunden Nieren fand es Marmé mit Sicherheit noch nach Verbrauch von 0,1 g, nach gleicher Dosis wiesen es auch Notta und Lugan noch mit Sicherheit nach; bei Tieren kann nach Marmé die Gabe geringer (0,01 g) sein. — Aus dem Tagesharn von Morphinisten stellte Burkart nach der Zufuhr von 1,3—1,4 g Morphin soviel des Alkaloids dar, dass es bei Kaninchen einmal eine leichte, einmal eine schwere Vergiftung bewirkte. Landsberg hat nur einmal, nämlich nach intravenöser Einverleibung von 0,8 g, Morphin im Harn aufgefunden. Nach Donath[2]) geht das Morphin $C_{17}H_{19}NO_3$ im Organismus in Pseudomorphin (Dehydromorphin) $(C_{17}H_{18}NO_3)_2$ über.

B. Eigenschaften.

1. Morphin krystallisiert in seidenglänzenden Nadeln oder derben Prismen mit 1 Molekül Krystallwasser. Es verliert das Krystallwasser bei 128° und schmilzt bei 230° unter Zersetzung. Morphin löst sich in 400 Teilen heissem Wasser, in 1000 Teilen Wasser von 10° löst sich nur 0,1 g Morphin. Das Hydrochlorid löst sich in ungefähr 24 Teilen Wasser. — 100 Teile Alkohol lösen beim Kochen

[1]) A. Heffter, Ergebnisse der Physiol. (Asher-Spiro). 4. 292. 1905. — E. Marquis, Dorpater Arbeiten 14. 117. 1896. — W. van Rijn, Pharm. Weekblad. 1907. 46.; Jahresber. f. Tierch. 37. 147. 1907. — E. Tauber, Arch. f. exp. Path. 27. 336. 1890. — E. St. Faust, ebenda 44. 453. 1900.

[2]) Marmé, Deutsche med. Wochenschr. 1883. 179. — R. Burkart, Schmidts Jahrb. 196. 124. — E. Landsberg, Pflügers Arch. 23. 425. — J. Donath, Ebenda 38. 528. 1886.

Digitized by Google

7,5 Teile, in der Kälte 5 Teile Morphin. In Äther lösen sich bei 5° 0,049 % Morphin. Das Hydrochlorid löst sich sehr wenig in Alkohol, nicht in Äther, dagegen in Glycerin (und zwar in 19 Teilen).

2. Morphin färbt sich mit einer frisch bereiteten Lösung von molybdänsaurem Natron in konzentrierter Schwefelsäure, welche im Kubikzentimeter 1—5 mg Molybdänsäure enthält, zuerst schön violett, dann blau, dann schmutzig grün (Fröhde).

3. Eine Lösung von Morphin in konzentrierter Schwefelsäure, welche 12—15 Stunden gestanden hat oder kurze Zeit auf 150° erwärmt wurde, färbt sich mit etwas verdünnter Salpetersäure oder einigen Körnchen Salpeter erst blauviolett und darauf dunkel blaurot (Husemann).

4. Eine neutrale konzentrierte Lösung eines Morphinsalzes wird durch Eisenchlorid schön dunkelblau.

5. Löst man etwas Morphin in 1—1,5 ccm rauchender Salzsäure, gibt einige Tropfen konzentrierte Schwefelsäure hinzu und verdampft nun auf dem Wasserbad, so tritt eine purpurrote Färbung ein. Fügt man nunmehr etwas Salzsäure hinzu, neutralisiert mit Natriumbicarbonat und gibt dann mit einem Glasstab ganz wenig Jodtinktur hinzu, so färbt sich die Flüssigkeit intensiv grün. Schüttelt man mit Äther, so nimmt der Äther die Farbe mit Purpurfarbe auf. Die Reaktion beruht auf der Bildung von Apomorphin (Pellagri).

C. Nachweis im Harn. Dem Nachweis hat die Isolierung vorauszugehen. Morphin ist nur in seltenen Fällen krystallinisch aus dem Harn erhalten worden (Marmé, Schneider, Landsberg).

1. Um das Morphin aus Harn zu extrahieren, wird derselbe nach Dragendorff u. Kauzmann[1]) auf ein Viertel eingedampft, der Rückstand mit dem 3—4fachen Volumen Alkohol, dem etwas Schwefelsäure zugesetzt ist, 24 Stunden stehen gelassen, die Lösung abfiltriert und der Alkohol von dem Filtrat abdestilliert; der Rückstand wird nach dem Erkalten durch ein feuchtes Filter filtriert und bei saurer Reaktion so oft mit je $^1/_4$—$^1/_2$ Volumen Amylalkohol geschüttelt, bis sich der Amylalkohol nicht mehr färbt; die Sonderung der beiden Flüssigkeiten lässt sich durch Erwärmen auf 60—80° beschleunigen. Färbt sich der Alkohol nicht mehr, so macht man die heisse Flüssigkeit mit Ammoniak alkalisch, schüttelt eine Zeitlang tüchtig, hebt den Amylalkohol ab und ersetzt ihn durch mindestens noch eine frische Portion Amylalkohol. Die letzteren Auszüge werden mit destilliertem Wasser gewaschen und ihnen das Alkaloid durch Schütteln mit wenigstens 2 Portionen des 10—12fachen Volumen heissen schwefelsauren Wassers (etwa 1 Teil Säure auf 60—80 Teile Wasser) entzogen. Die wässerigen Lösungen werden auf ein kleines Volumen verdunstet und so lange mit Amylalkohol geschüttelt, bis dieser farblos bleibt. Darauf wird das Alkaloid wieder, nach dem Übersättigen mit Ammoniak, durch erneute Mengen Amylalkohol aufgenommen, die Lösungen durch ein trockenes Filter filtriert, der grösste Teil des Amylalkohols abdestilliert und der Rest im Wasserbad verdunstet. Ist der Rückstand für die Anstellung der Reaktion noch nicht rein genug, so löst man

[1]) Dragendorff, Pharm. Zeitschr. f. Russland 1868. 4. Heft.

Digitized by Google

ihn wieder in schwefelsaurem Wasser und reinigt ihn nochmals in der angegebenen Weise. — Statt dem alkalischen Amylalkohol das Alkaloid durch Schütteln mit saurem Wasser zu entziehen, kann man auch den sonst ganz in der beschriebenen Weise gewonnenen trockenen Rückstand wiederholt in saurem Wasser lösen und das Filtrat, nach dem Übersättigen mit Ammoniak, mit Amylalkohol schütteln; man gelangt so schneller und ohne grossen Verlust zum Ziele. — Das Alkaloid bleibt bei diesen Darstellungen amorph zurück; um es krystallisiert zu erhalten, löst man den Rückstand in wenig starkem Alkohol und lässt die Lösung langsam verdunsten. Das Alkaloid krystallisiert dann in sternförmigen Drusen scharf begrenzter, schief abgestumpfter Prismen. — Es gelingt nach diesem Verfahren nur schwer, das Morphin vom Harnstoff zu befreien, doch stört dieser die Morphinreaktionen nicht.

Landsberg [1]), welcher mit der Dragendorffschen Methode keine positiven Resultate erhielt, brachte folgendes von Wislicenus entworfene Verfahren in Anwendung. Der Harn wurde nach Zusatz von Essigsäure zum Sirup verdunstet, der Rückstand wiederholt mit absolutem Alkohol in der Kälte ausgezogen, der Alkohol vom Filtrat abgedampft, der Rückstand mit Wasser ausgezogen und die Lösung nach Zusatz einiger Tropfen Essigsäure so oft mit Amylalkohol bei 70° ausgezogen, bis sich der Alkohol nicht mehr färbte. Die rückständige saure wässerige Lösung wurde verdampft, der Rückstand alkalisch gemacht, wiederholt mit heissem Amylalkohol ausgezogen, und der Amylalkohol verdunstet.

Ähnliche Verfahren haben Warnecke, ferner Notta und Lugan, sowie Wormley angegeben. Schneider schüttelt den mit etwas Schwefelsäure versetzten Harn direkt mit Amylalkohol. Donath [2]) gibt der Fällung des Harns mit Jodquecksilberjodkalium den Vorzug.

2. Verfahren von Autenrieth.

Autenrieth [3]) säuert den Harn mit Weinsäure stark an, verdampft zum Sirup, kocht den Sirup mit dem mehrfachen Volum absolutem Alkohol aus. Der Alkoholrückstand wird in Wasser aufgenommen und zunächst bei saurer Reaktion, dann nach Zusatz von Natronlauge mit grösseren Mengen Äther wiederholt ausgezogen. Dann wird die wässerige Flüssigkeit mit Ammoniumchlorid versetzt und mit reichlich Chloroform unter häufigem Umschütteln auf dem Wasserbad erwärmt. Das Chloroform wird abgetrennt, durch Zusatz von etwas Kochsalz entwässert, durch ein trockenes Filter gegossen und verdunstet. Der Rückstand enthält das Morphin, das durch obige Reaktionen identifiziert werden kann.

---

[1]) E. Landsberg, Pflügers Arch. **23**. 425.

[2]) H. Warnecke, Pharm. Zeitg. **28**. 234; Zeitschr. f. analyt. Ch. **22**. 635. — Notta und Lugan, Arch. d. Pharm. [3] **23**. 512; Zeitschr. f. analyt. Ch. **25**. 145. — Th. G. Wormley, Chem. News **62**. 65, 79 u. 99; Ch. Zentralbl. **2**. 565. 1890. — R. Schneider, Über das Schicksal des Caffeins und Theobromins im Tierkörper nebst Untersuch. über den Nachweis des Morphins im Harn. Dissert. Dorpat 1884; Zeitschr. f. analyt. Ch. **24**. 302; Jahresber. f. Tierch. 1884. 235. — J. Donath, Pflügers Arch. **38**. 528. 1886.

[3]) W. Autenrieth, Ber. d. pharm. Gesellsch. **11**. 494. 1901.

Digitized by Google

3. Van Rijn[1]) engt den Harn unter Zusatz von Weinsäure ein; der Rückstand wird mehrmals mit starkem Alkohol ausgekocht (jedesmal einige Stunden). Nach 24 Stunden wird filtriert, eingeengt. Dann wird mit Wasser versetzt und ein abermaliger Niederschlag nach 24 Stunden durch Filtration entfernt. Es wird wieder eingedampft, mit absolutem Alkohol gefällt. Filtrat eingedampft und in Wasser aufgenommen. Die wässerige Lösung wird mit Äther ausgeschüttelt, dann mit NH_3 alkalisch gemacht und wieder ausgeschüttelt; dann wird mit Schwefelsäure angesäuert und der Äther durch Eindampfen vertrieben. Dann wird die Flüssigkeit mit 100 ccm heissem Amylalkohol übergossen, sehr vorsichtig mit NH_3 alkalisch gemacht, sofort kräftig geschüttelt. Die Ausschüttelung wird zweimal wiederholt. Dann wird die amylalkoholische Lösung mit Schwefelsäure ausgeschüttelt und schliesslich der Amylalkohol verdunstet. Der Rückstand enthält das Morphin.

V. Codein, Methylmorphinäther $C_{17}H_{18}(OCH_3)O_2N$.

Im Gegensatz zum Morphin erscheinen von eingegebenem Codein grosse Mengen (70—80 %) im Harn (Tauber, Bouma[2])). Zum Nachweis bzw. zur Bestimmung im Harn wird nach Bouma der mit Essigsäure angesäuerte Harn zum Sirup eingedampft und mit 95 %igem Alkohol ausgezogen. Der Alkoholrückstand wird in Wasser gelöst, mit Schwefelsäure angesäuert und mit Äther ausgeschüttelt, so lange der Äther sich noch färbt. Dann wird die wässerige Flüssigkeit mit Ammoniak stark alkalisch gemacht und durch wiederholtes Ausschütteln mit Äther das Codein entzogen. Die letzten Reste werden durch Ausschütteln mit Benzol herausgenommen. Die Äther-Benzolauszüge werden zusammengetan und mit Wasser gewaschen und abdestilliert. Der Rückstand wird aus wasserfreiem Äther umkrystallisiert bei 100° getrocknet und gewogen.

Codein hat den Schmelzpunkt 155°. Erwärmt man Codein mit konzentrierter Schwefelsäure, der eine sehr geringe Menge Eisenchlorid hinzugefügt ist, so nimmt die Lösung eine tiefblaue Farbe an. — Mit dem Reagens von Froehde (siehe bei Morphin) löst sich Codein zuerst mit gelblicher, dann grünlicher und tiefblauer Farbe. — Fügt man zu einer auf 150° erhitzten Lösung von Codein in konzentrierter Schwefelsäure nach dem Erkalten 1 Tropfen Salpetersäure, so färbt sich die Flüssigkeit blutrot.

VI. Strychnin.

Nach den übereinstimmenden Untersuchungen von Kratter, Plugge, v. Rautenfeld, Ipsen[3]) geht Strychnin als solches und nicht als Strychninsäure in den Harn über; die Ausscheidung dauert mehrere Tage. — Nach tödlichen Dosen fand Ipsen bei Tieren schon nach 2—5 Minuten Strychnin im Harn. Nach kleiner Dosis ist Strychnin nach 1—2 Stunden im Harn nachweisbar.

Eigenschaften. 1. Strychnin ist in Wasser schwer löslich (1:7000). In verdünnten Säuren löst es sich leicht. In Benzol lösen sich 0,6 %, in Alkohol je nach der Temperatur 0,3—1,8 %.

2. Bringt man in eine Lösung von Strychnin in konzentrierter Schwefelsäure ein stecknadelkopfgrosses Stück Kaliumbichromat und bewegt dasselbe etwas, so entstehen vom Bichromat ausgehend violette oder blaue Streifen, bis die Flüssigkeit

---

1) W. van Rijn, Pharmaz. Weekblad. 1907. 46; Jahresber. f. Tierch. **37.** 147. 1907.

2) E. Tauber, Dissert. Strassburg 1892. — J. Bouma, Arch. f. exp. Path. **50.** 353. 1903.

3) P. C. Plugge, Jahresber. f. Tierch. 1885. 96. — P. v. Rautenfeld, Petersburger med. Wochenschr. **1.** 1885; Jahresber. f. Tierch. 1885. 202. — J. Kratter, Wiener med. Wochenschr. 8—10. 1882. — C. Ipsen, Vierteljahrsschrift f. gericht. Med. [3] **4.** 15. 1892.

Digitized by Google

im ganzen eine blaue Farbe annimmt. 0,001 mg Strychnin sind so noch nachweisbar. Man führt die Probe auf einem Tiegeldeckel aus.

3. 1 ccm einer höchstens 0,1 %igen Strychninlösung wird mit 1 ccm konzentrierter Salzsäure und 1 g chemisch reinem Zink zusammengebracht. Nach 2—4 Minuten wird rasch zum Sieden erhitzt, abgekühlt und auf 2 ccm konzentrierter Schwefelsäure aufgegossen. An der Berührungstelle entsteht ein rosafarbener Ring. Mit der Zeit nimmt die ganze Flüssigkeit die Rosafarbe an.

4. Bei Injektion einer Strychninlösung in den Rückenlymphsack des Frosches treten die charakteristischen Strychninreflexkrämpfe ein. Es genügen schon einige Hundertstel Milligramm.

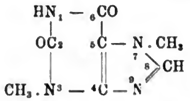
Darstellung. Schultzen[1]) konnte es bei einer Strychninvergiftung nach folgendem Verfahren aus Harn darstellen. Der Alkoholauszug des verdunsteten Harns wurde eingedampft, der Rückstand mit Kali alkalisch gemacht und mit Äther ausgeschüttelt. Dieser hinterliess beim Verdunsten kleine vierseitige Säulen, welche in Wasser fast unlöslich waren, demselben aber einen intensiv bittern Geschmack erteilten und mit chromsaurem Kali und Schwefelsäure die Strychninreaktion gaben. — Kratter verdunstet den mit Schwefelsäure angesäuerten Harn auf $^1/_5$ Vol., kocht den Rückstand mit Alkohol, filtriert den Alkohol nach dem Erkalten ab, engt das Filtrat ein und schüttelt die rückständige Flüssigkeit erst direkt und dann, nach dem Übersättigen mit Ammoniak, mit Chloroform aus. Die nach dem Abdestillieren des Chloroforms bleibenden Rückstände werden mit konzentrierter Schwefelsäure gelinde erwärmt, in Wasser gelöst, das Filtrat mit Ammoniak übersättigt und mit Chloroform ausgeschüttelt. Das Verfahren wird mehrfach wiederholt. Zuletzt lässt man die Chloroformlösung auf einem Uhrglas verdunsten. — Chloroform eignet sich nach Plugge am besten zur Extraktion des Strychnins.

Ipsen verdampft den Harn mit Weinsäure zur Sirupkonsistenz und verarbeitet dann wie Kratter (siehe vorher). Zur Reinigung des Chloroformrückstandes löst Ipsen denselben in Schwefelsäure 1 : 1000 durch gelindes Erwärmen; filtriert, macht mit NH_3 alkalisch und schüttelt mit Chloroform aus. Dieser Chloroformrückstand wird mit wenig wässeriger Schwefelsäure gelöst und im Uhrglas der Krystallisation überlassen.

VII. Theobromin und Caffein[2]).

A. Auftreten. Thein (Caffein) und Theobromin gehen im Tierkörper in Heteroxanthin (Monomethylxanthin) über und daher findet man nach der Zufuhr dieser Basen nichts oder nur einen kleinen Teil von ihnen im Harn wieder; da die Reaktionen, mit welchen man sie nachweist, eine Verwechselung mit Xanthin und Heteroxanthin zulassen, so ist für eine Entfernung der Xanthinbasen Sorge zu tragen.

B. Eigenschaften. I. Theobromin, 3,7-Dimethyl-2,6-Dioxypurin (3,7-Dimethylxanthin), $C_7H_8N_4O_2$.



1. Theobromin bildet ein weisses, aus kleinen rhombischen Prismen bestehendes Pulver, sublimiert unzersetzt bei etwa 290°. Es ist leicht löslich in Wasser und Alkohol, fast unlöslich in Äther und Tetrachlorkohlenstoff.

2. Gibt mit Sublimat ein Salz (Schneider), meist dichte Drusen kleiner Prismen. Die Verbindung mit Silbernitrat erscheint in Drusen grosser breiter Prismen. Beim Verdunsten von Theobromin mit Salpetersäure auf dem Wasser-

[1]) Schultzen, Arch. f. Anat. 1864. 498.
[2]) siehe auch in dem Abschnitt Xanthinbasen.

Digitized by Google

bad oder über freier Flamme bleibt ein graugelber Rückstand, der sich im Ammoniakdampf oder mit wässerigem Ammoniak kaum rot färbt, mit Natronlauge gelb. Gegen Chlor verhält sich das Theobromin wie das Caffein, nur wird das mit Ammoniak behandelte Reaktionsprodukt durch Natronlauge etwas mehr blau und hat diese Färbung Bestand (siehe bei Caffein).

II. Caffein (Coffein, Thein, Guaranin). 1,3,7-Trimethyl-2,6-Dioxypurin (1,3,7-Trimethylxanthin), $C_8H_{10}N_4O_2$.

1. Caffein krystallisiert in seideglänzenden Nadeln mit 1 Mol. Krystallwasser. Es verliert das Krystallwasser bei 100°, schmilzt bei 234,5°, ist unzersetzt sublimierbar. Es ist geruchlos, schmeckt bitter, löst sich wenig in kaltem, reichlich in heissem Wasser. Es ist leicht löslich in Chloroform, Benzol, Schwefelkohlenstoff.

2. Auf Zusatz von Silbernitrat oder Sublimat entstehen auf dem Objektträger bald die Verbindungen der Basis mit diesen Salzen (Schneider); die Verbindung mit Silbernitrat bildet, dichte gewimperte Kugeln, die mit Sublimat ein Haufwerk von Prismen.

3. Dampft man Caffein mit Salpetersäure im Wasserbad ein, so bleibt ein krystallinischer, zitronengelber Rückstand, welcher seine Farbe durch Ammoniak oder Natronlauge nicht ändert; verdampft man dagegen über freiem Feuer, so erhält man einen amorphen Rückstand, der sich in Ammoniak mit Purpurfarbe löst (Rochleder); Zusatz von Natronlauge bringt diese Färbung zum Verschwinden; im Ammoniakdampf wird der Rückstand rosenrot, Wasser löst ihn darauf purpurfarben.

4. Beim Verdunsten von Caffein mit Chlorwasser (Salzsäure und chlorsaurem Kali) bleibt ein purpurroter Rückstand, der bei stärkerem Erwärmen goldgelb, durch Ammoniak aber wieder rot wird (Schwarzenbach); er verhält sich sonst wie der mit Salpetersäure erhaltene Rückstand. Die Reaktion tritt schon im Wasserbad ein. Die Reaktion beruht auf der Bildung von Amalinsäure (Tetramethylalloxanthin). Theobromin gibt die gleiche Reaktion.

C. Darstellung. Hammarsten versetzt den Harn mit wenig Schwefelsäure, verdunstet auf ein kleines Volumen, lässt den Rückstand mit 3 Volum Alkohol von 97% 12 Stunden in Berührung, verdunstet das Filtrat und schüttelt die rückständige Flüssigkeit 3—4 mal mit dem halben Volum Benzol. Schutzkwer sowie Rost verfahren in ähnlicher Weise, nehmen aber das Caffein mit Chloroform auf. — Schneider behandelt den Harn direkt mit Extraktionsmitteln. Da Petroläther dem Harn kein Caffein entzieht, Benzin weniger Unreinigkeiten aufnimmt als Chloroform, so schüttelt er den Harn zuerst, zur Entfernung von fremder Substanz, die in das Benzin übergehen würde, mit Petroläther, dann, bei alkalischer Reaktion, mit Benzin und verdunstet dieses. Das Theobromin lässt sich dem Harn nach Schneider nur bei saurer Reaktion und nur durch Chloroform entziehen. Nach diesen Methoden liess sich zwar das Caffein noch leicht nachweisen, welches Harn zugesetzt war, aber nicht mehr so nach der Einverleibung. Nur Maly und Andreasch [1]) gelang es, dem mit Chlorbarium und Bariumhydrat von Phosphaten befreiten Harn eines Hundes nach Verabreichung von 0,1 g Thein 0,066 g durch Chloroform zu entziehen. Der Auszug gab die Schwarzenbachsche Reaktion. Möglicherweise liegt hier eine Verwechselung mit Xanthin und Heteroxanthin vor.

Vollständig gefällt werden diese Basen aus dem mit Salzsäure oder Schwefelsäure angesäuerten Harn durch Phosphorwolframsäure, zugleich aber mit den Xanthinbasen und der Harnsäure. Um diese auszuschalten, genügt es nicht, den

[1]) Hammarsten, Virchow-Hirschs Jahresb. 1. 114. 1870. — N. Schutzkwer, Dissert. Königsberg; Jahresber. f. Tierch. 1883. 209. — E. Rost, Arch. f. exp. Path. 36. 56. 1895. — R. Schneider, Über das Schicksal des Coffeins und Theobromins im Tierkörper nebst Unters. über den Nachweis des Morphins im Harn. Diss. Dorpat. 1884. Jahresb. f Tierch. 14. 255. 1884. — Maly und Andreasch, Monatsh. f. Ch. 4. 383. 1883.

Digitized by Google

Harn mit Bleiessig und Ammoniak auszufällen (Albanese). Albanese empfiehlt dazu den mit Essigsäure schwach angesäuerten Harn in der Wärme mit neutralem Kupferacetat auszufällen. Sicherer dürfte die Entfernung der Xanthinbasen und der Harnsäure gelingen durch Fällen mit Kupferoxydulsalz, durch welches Caffein und Theobromin nicht niedergeschlagen werden (Balke, Krüger). Diese Trennung kann man auch ausführen, nachdem man den Phosphorwolframsäureniederschlag mit Bariumhydrat zerlegt und die Basen in Lösung gebracht hat. Aus dieser Lösung lassen sich die Xanthinbasen auch durch ammoniakalische Silberlösung abscheiden, wobei Caffein und Theobromin in Lösung bleiben, beim Wegkochen des Ammoniaks fällt nur das Theobromin als Silbersalz aus (Kunze). Den Flüssigkeiten sind dann die gesuchten Basen durch geeignete Lösungsmittel (Chloroform und dergl.) zu entziehen. Rost[1]) zerlegt zum Aufsuchen des Theobromins den Phosphorwolframsäureniederschlag wie üblich mit Bariumhydrat, entfernt den überschüssigen Baryt mit Kohlensäure, trocknet das Filtrat auf Gips ein, extrahiert im Soxhletschen Apparat mit Chloroform, verdunstet dieses, löst den Rückstand in verdünnter Natronlauge, versetzt mit ammoniakalischer Silberlösung und entfernt aus dem Filtrat das Ammoniak durch Kochen.

Anhang.

Glykuronsäure und gepaarte Glykuronsäuren.

I. Glykuronsäure.

$C_6H_{10}O_7$.

$$\begin{array}{ccccccccccc} & & OH & & H & & OH & & OH & & \\ CHO & - & \dot{C} & - & \dot{C} & - & \dot{C} & - & \dot{C} & - & COOH \\ & & | & & | & & | & & | & & \\ & & H & & OH & & H & & H & & \end{array}$$

A. Vorkommen. Die Glykuronsäure kommt nicht als solche im Harn vor, sondern tritt in glykosidartiger Verbindung mit den verschiedensten fetten und vorzüglich aromatischen Alkoholen auf. (Vgl. S. 1504.) Nur nach Einführung grosser Mengen von Glykuronsäure — namentlich subkutan — erscheint freie Glykuronsäure in geringen Mengen im Harn (Neuberg[2])).

de Chalmot unterwarf den Abdampfungsrückstand von 200 ccm normalem Harn der Destillation mit Salzsäure und gewann dabei weniger als 25 mg Furfurol; wenn bloss Glykuronsäure das Furfurol geliefert hätte, so wären in den 200 ccm Harn weniger als 40—50 mg Glykuronsäure enthalten gewesen. — Mit verbesserter Methodik kamen Tollens und Stern auf 0,025 g Glykuronsäure in 100 ccm Harn. — Neuberg und Mayer fanden bei direkter Darstellung (aus 50 l Harn) 0,004 g Glykuronsäure auf 100 ccm Harn. Hervieux[3]) fand ähnliche Werte (s. auch S. 1511).

[1]) M. Albanese, Arch. f. exp. Path. **35**. 451, 455. 1895. — Balke, Journ. f. prakt. Ch. [2] **47**. 537. — M. Krüger, Zeitschr. f. physiol. Ch. **18**. 355. — W. E. Kunze, Zeitschr. f. anal. Ch. **33**. 25. 1894. — Rost, a. a. O. 65.

[2]) C. Neuberg, Der Harn. Verlag Springer. 1912. S. 430.

[3]) G. de Chalmot, Ber. d. chem. Gesellsch. **25**. 2571. 1891. — C. Tollens und F. Stern, Zeitschr. f. phys. Chem. **64**. 39. 1910. — C. Neuberg und P. Mayer, Ebenda **29**. 256. 1900. — Ch. Hervieux, Bull. de la soc. chim. [4] **3**. 349. 1908.

Digitized by Google

Die zuerst bekannt gewordene gepaarte Glykuronsäure ist die von Musculus und v. Mering entdeckte Urochloralsäure (Trichloräthyl-Glykuronsäure). Nachdem Jaffé das Bestehen der Glykuronsäure wahrscheinlich gemacht hatte, ist sie von Schmiedeberg und H. Meyer zuerst dargestellt und die Konstitution ihrer Verbindungen erkannt worden. Weiter untersucht wurde die Glykuronsäure von Spiegel, von E. Külz und namentlich von Thierfelder und C. Neuberg [1]). Im normalen Harn kann die Glykuronsäure vorkommen in Verbindung mit Indoxyl, Skatoxyl, Parakresol, Phenol und anderen Phenolen (s. dort sowie S. 1507).

Neben stickstofffreien gepaarten Glykuronsäuren findet sich im Harn manchmal noch gepaarte stickstoffhaltige Glykuronsäure, welche beim Erhitzen mit Barythydrat die stickstofffreie gepaarte Glykuronsäure neben Ammoniak und kohlensaurem Baryt liefert: Uramido-Glykuronsäure (Wiedemann, Schmiedeberg und Meyer, Schmiedeberg, Pellacani [2]). Sie ist nicht zu verwechseln mit den Harnstoffsalzen organischer Säuren, welche einige Male aus Harn gewonnen wurden.

B. Eigenschaften. Zur Darstellung von reiner Glykuronsäure geht man von Piuri (Purree, Jaune indien), einer Malerfarbe, die wahrscheinlich aus dem Harn von mit Mangoblättern gefütterten Kühen wonnen wird, aus, oder von Mentholglykuronsäure, die durch Verabreichung von Menthol an Kaninchen erzeugt wird (Neuberg, Neuberg u. Lachmann [3])).

1. Die Säure bildet einen in Wasser und Alkohol löslichen Sirup. Sie dreht die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts. Bei einstündigem Kochen mit Wasser liefert sie 20% eines laktonartigen Anhydrids, bei längerem Kochen nicht mehr.

2. Das Anhydrid (Lakton) Glykuron, $C_6H_8O_6$, bildet wasserhelle, dicke, monokline Tafeln, welche nach Thierfelder um 167°, nach Mann und Tollens [4]) bei 170—175° unter Bräunung und Zersetzung schmelzen. Es löst sich sehr leicht in Wasser, gar nicht in Alkohol; es schmeckt süss und etwas bitter. Seine Lösungen drehen rechts. In 5—14%iger Lösung beträgt bei 18° C nach Thierfelder $[\alpha]_D = 19{,}4^0$ (Mittel aus 5 Bestimmungen), in 3%iger Lösung nach Külz gleichfalls = 19,4°, in 2%iger Lösung bei 22,6° nach Mann und Tollens im Mittel 18,17°. Nach Thierfelder scheint die spez. Drehung mit dem Wachsen der Konzentration der Lösungen etwas abzunehmen; mit steigender Temperatur der Lösung wächst sie.

[1]) Musculus und v. Mering, Berichte d. chem. Gesellsch. 8. 662. 1875. — Jaffé, Zeitschr. f. phys. Chem. 2. 59. 1878/79. — O. Schmiedeberg und H. Meyer, Zeitschr. f. phys. Chem. 3. 422. 1879. — A. Spiegel, Berichte d. chem. Gesellsch. 15. 1965. 1882. — E. Külz, Zeitschr. f. Biologie 23. 475. 1887. H. Thierfelder, Zeitschr. f. phys. Chem. 11. 388. 1887; 13. 275. 1889. — C. Neuberg, Ergebn. d. Physiol. (Asher-Spiro). III. 1. Abt. 431. 1904.

[2]) C. Wiedemann, Arch. f. exper. Path. 6. 232. 1877. — Schmiedeberg und Meyer, a. a. O. 446. — Schmiedeberg, Arch. f. exper. Pathol. 14. 307. 1881. — P. Pellacani, das. 17. 390. 1883.

[3]) C. Neuberg, Ber. d. chem. Gesellsch. 33. 3317. 1900. — C. Neuberg und S. Lachmann, Biochem. Zeitschr. 24. 416. 1910.

[4]) F. Mann u. B. Tollens, Ann. d. Chem. 290. 156. 1896.

Digitized by Google

3. Das Glykuron ist in trockenem Zustand haltbar, bei Gegenwart von Feuchtigkeit und namentlich von (Spuren) Mineralsäure bräunen sich die Krystalle und zerfliessen. Seine wässerige Lösung ist in der Kälte beständig, bei Wasserbadtemperatur geht aber ein Teil des Laktons in die Säure über. Ebenso verwandelt sich das Glykuron beim Behandeln mit Alkali- oder Erdalkalihydraten und -carbonaten in die Glykuronsäure.

4. Die Glykuronsäure ist einbasisch, ihre normalen Salze sind in Wasser löslich.

a) Eine 10prozentige Lösung des Kalisalzes wird nach Thierfelder durch gleich konzentrierte Lösungen von Zink-, Cadmium-, Kupfer-, Magnesiumsulfat, Eisenchlorid, essigsaurem Quecksilber, Strontium und Silbernitrat nicht gefällt. Mit überschüssigem Baryumhydrat bildet die Säure ein schwer lösliches basisches Salz. Das Anhydrid wird nicht durch Bleizucker, wohl aber durch Bleiessig gefällt, es löst kohlensauren Baryt unter Brausen zu glykuronsaurem Salz.

b) Das Kalisalz $C_6H_9KO_7$ (bei 100° getrocknet) krystallisiert nach Thierfelder leicht in farblosen. stark lichtbrechenden Nadeln mit 4 Prismenflächen und domatischen Abstumpfungen, auch in blumenkohlartigen Massen, bräunt sich in feuchtem Zustand an der Luft, hält sich aber über Schwefelsäure unverändert. Das Salz dreht rechts $[\alpha]_D = + 21,3$ bis $+ 21,8^0$.

c) Das Natronsalz krystallisiert gleichfalls leicht in dendritisch verzweigten, radiär gestellten Nadeln.

d) Das Kalk-, Baryt-, Zink-, Silber-, Cadmium- und Kupfersalz sind bisher nur amorph gewonnen worden; das Bleisalz ist gewöhnlich amorph, einmal wurde es (von Schmiedeberg und Meyer) in farblosen Nadeln erhalten. Das Barytsalz wird durch Alkohol aus seiner wässerigen Lösung gefällt und bildet nach dem Trocknen im Vakuum ein außerordentlich lockeres weisses oder gelbliches Pulver. Das basische Barytsalz fällt aus einer konzentrierten Lösung des Barytsalzes oder des Glykurons auf Zusatz von Barytwasser in Flocken aus, bei Verwendung des Anhydrids nur allmählich. Durch CO_2 wird es gelöst, aber nicht in normales Salz übergeführt; durch verdünnte Schwefelsäure wird es zerlegt.

e) Glykuronsäure wird von neutralem Bleiazetat nicht gefällt. Mit Bleiessig oder Bleiessig und Ammoniak entstehen voluminöse Fällungen von basischem Salz.

5. Schüttelt man eine Lösung von 1 Mol. Glykuronsäure mit 9 Mol. Benzoylchlorid und 12 Mol. Natriumhydrat (in 10%iger Lösung), so erhält man einen zähen, in Wasser unlöslichen, in Alkohol, namentlich in warmem, leicht löslichen Niederschlag von Dibenzoyl-Glykuronsäure $C_6H_8O_7(CO \cdot C_6H_5)_2$. Die Substanz schmilzt für sich bei 107°, unter Wasser aber schon bei gelinder Wärme; sie reduziert Fehlingsche Lösung. Verwendet man zur Darstellung der Verbindung viel mehr Natronlauge, so ist die Ausbeute gering (Thierfelder).

6. Nach Thierfelder und P. Mayer[1]) liefert Glykuronsäure Verbindungen mit Phenylhydrazin. Eine scheidet sich (ungefähr

[1]) Thierfelder, a. a. O. 11. 395. — P. Mayer, Ebenda 29. 59. 1900.

Digitized by Google

25% der Säure) sehr langsam in schön gelben, sich bräunenden Nadeln vom Schmelzpunkt 114—115° ab; eine andere hat den Schmelzpunkt 159 bis 164° (wie die Pentosazone), eine dritte 210° wie verschiedene Hexosazone.

Nach Neuberg und Neimann[1]) entsteht reines Glykuronsäurephenylosazon $C_{18}H_{20}O_5N_4$ bei Einwirken von 1 Mol. Glykuron auf 3 Mol. Phenylhydrazin in Essigsäure gelöst bei 40° in einigen Tagen. Es kristallisiert in Nadeln. Smp. 200—202°. Es ist leicht löslich in Pyridin und Azeton, sehr wenig löslich in Wasser, Benzol, Äther; es ist linksdrehend.

7. Glykuronsäure-p-Bromphenylhydrazinverbindung (Neuberg)[2]). In einer Lösung von 2 g Glykuronsäure in 250 ccm Wasser gibt man eine vorher zum Sieden erhitzte Lösung von 5 g reinem salzsaurem p-Bromphenylhydrazin und 6 g Natriumacetat. Man bringt ins Wasserbad. Nach 5—10 Minuten beginnt die Abscheidung hellgelber Nadeln. Beim Abkühlen entsteht ein reichlicher Niederschlag. Es wird abfiltriert und von neuem erwärmt etc. Dasselbe wird 4—5 mal wiederholt. Durch Umkrystallisieren aus 60%igem siedendem Alkohol bekommt man Krystalle vom Schmelzpunkt 236°. $\alpha_D = -91{,}2^0$ (im Pyridin-Alkoholgemisch nach Neuberg [s. S. 332]).

8. Glykuronsäuresemicarbazon $C_7H_{13}O_6N_3$ entsteht aus den Komponenten in der Wärme. Es bildet lange Nadeln, Smp. 188°, ist schwer löslich in Alkohol, Äther, Wasser; reduziert stark, Giemsa[3]).

9. Glykuronsaures Kali vereinigt sich nach Thierfelder unter Austritt von 1 Mol. Wasser zu gleichen Mol. mit Anilin und unter Austritt von 2 Mol. Wasser zu 2 Mol. mit 1 Mol. Toluylendiamin. Die krystallisierenden Verbindungen entsprechen den analogen des Traubenzuckers; sie drehen, wie die gepaarten Glykuronsäuren, links.

10. Bei anhaltendem Erwärmen mit Wasser zersetzen sich Säure und Anhydrid unter Bildung brauner Produkte.

11. Die Glykuronsäure gibt die Reduktionsproben des Traubenzuckers. Wird die Glykuronsäure anhaltend mit starker Kalilauge erhitzt, so liefert sie nach Thierfelder wie der Traubenzucker unter Bräunung der Lösung, Brenzkatechin und Protokatechusäure, aber im Gegensatz zum Zucker keine Milchsäure, sondern Oxalsäure. Dementsprechend gibt die Glykuronsäure nach Moritz[4]) auch die Rubnersche Zuckerprobe mit Bleihydrat (S. 455). Das Anhydrid (und die Säure) reduziert Kupfer- und Wismutoxyd in alkalischer Lösung, ferner ammoniakalische Silberlösung und alkalische Indigolösung. Gegen Feh-

[1]) C. Neuberg u. W. Neimann, Zeitschr. f. phys. Chem. 44. 97. 1905.
[2]) C. Neuberg. Ber. d. chem. Gesellsch. 32. 2395. 1899.
[3]) S. Giemsa, Ber. d. chem. Gesellsch. 33. 2996. 1900. Zeitschr. f. phys. Chem. 41. 548. 1904.
[4]) F. Moritz, Arch. f. klin. Med. 46. 265. 1890.

Digitized by Google

lingsche Lösung ist das Reduktionsvermögen des Anhydrids ebenso gross, wie das der Dextrose (Thierfelder).

12. Beim Erhitzen mit verdünnter (12%iger) Salzsäure liefert die Glykuronsäure nach Tollens und seinen Mitarbeitern, wie die Pentosen, reichliche Mengen von Furfurol nach der Gleichung

$$C_6H_8O_6 = C_5H_4O_2 + 2H_2O + CO_2.$$

Das Glykuron liefert dabei nach Mann und Tollens jedoch statt der berechneten 54,55 % Furfurol nur 15—17 %, aber die berechnete Menge Kohlensäure; ein Teil des Glykurons wird dabei in Huminsubstanzen verwandelt. Die gepaarten Glykuronsäuren: Euxanthinsäure, Urochloralsäure und Urobutylchloralsäure ergaben dagegen die berechnete Menge Furfurol. Das Furfurol wurde als Phenylhydrazon gewogen.

In älteren Versuchen, in welchen das Furfurol in weniger verlässlicher Weise mit Phenylhydrazin titriert wurde, erhielten Günther und Tollens aus der Glykuronsäure 46 % Furfurol, de Chalmot und Tollens [1]) aus der Euxanthinsäure auf Glykuron berechnet nur 29 %, aus der Urochloralsäure ebenso nur 31 % Furfurol.

Thierfelder wies nach, dass bei derartiger Zersetzung der Glykuronsäure keine Lävulinsäure $C_5H_8O_3$ entsteht; er erhielt neben Ameisensäure in sehr kleiner Menge eine Säure $C_5H_6O_3$, die mit keiner ihr isomeren identisch ist. Sie bildet hellgelbe kurze Säulen, schmilzt bei 197°, löst sich wenig in kaltem Wasser und in Äther, leicht in warmem Wasser und in Alkohol, gibt mit Barytwasser einen Niederschlag und reduziert alkalische Kupferlösung augenblicklich in der Kälte.

13. Brom oxydiert die Glykuronsäure nach Thierfelder [2]) zu Zuckersäure COOH — (CH . OH)$_4$ — COOH, wie den Traubenzucker nach Kiliani zu Glykonsäure CH$_2$. OH — (CH . OH)$_4$ — COOH.

14. Bei der Oxydation mit Chromsäure liefert die Glykuronsäure Kohlensäure, Ameisensäure (Schmiedeberg und Meyer) und Aceton (Flückiger [3]).

15. Durch Reduktion mit Natriumamalgam geht die Glykuronsäure nach Thierfelder [4]) in die Gulonsäure $C_6H_{12}O_7$ über.

16. Mit Alkoholhefe gärt die Glykuronsäure nicht; in kleinen Mengen ist sie vielleicht neben viel Traubenzucker vergärbar (Daiber). — Im Gegensatz hierzu gibt Hildebrandt [5]) an, dass freie Glukuronsäure durch Hefe oder Zymin vergärbar sei zu CO_2 und Essigsäure event. Malonsäure.

Bei der Gärung mit Kloakenschlamm liefert die Glykuronsäure anfangs Kohlensäure und Wasserstoff, denen sich später noch Sumpfgas hinzugesellt; zu-

[1]) F. Mann u. B. Tollens, Ann. d. Chem. **290**. 157. 1896. — A. Günther, G. de Chalmot und Tollens, Ber. d. chem. Gesellsch. **23**. 1751. 1890; **25**. 2569. 1892.

[2]) Thierfelder, a. a. O. **11**. 401; Berichte d. chem. Gesellsch. **19**. 3148.

[3]) Flückiger, Zeitschr. f. phys. Chem. **9**. 351. 1885.

[4]) Thierfelder, Zeitschr. f. phys. Chem. **15**. 71. 1890; Ber. d. chem. Gesellsch. **24**. 521.

[5]) A. Daiber, Schweizer Wochenschr. f. Chem. u. Pharm. **33**. 229. 1895. — H. Hildebrandt, Beitr z.. chem. Phys. u. Path. **7**. 439. 1905.

Digitized by Google

letzt tritt nur Kohlensäure und Sumpfgas auf. Thierfelder erklärt dieses Resultat durch die Annahme, dass die Glykuronsäure zunächst in Essigsäure, Milchsäure und Kohlensäure, dann die Milchsäure in Essigsäure, Kohlensäure und Wasserstoff und endlich die Essigsäure in Kohlensäure und Sumpfgas zerlegt wird.

17. Bei der Behandlung mit Salzsäure und Phloroglucin oder Orcin geben die Glykuronsäure und ihre Paarlinge nach Tollens und seinen Mitarbeitern die Farbenreaktion der Pentosen (S. 362 ff.), dieselbe Rotfärbung und dasselbe Spectrum. Auch gegen α-Naphthol zeigt die Glykuronsäure nach v. Udránszki sowie Luther ein dem Traubenzucker gleiches Verhalten, wenn man nach Luther[1]) zu starkes Erhitzen der Flüssigkeit vermeidet.

18. Die Naphthoresorcinprobe von B. Tollens[2]). Glykuronsäure gibt mit Naphthoresorcin und Salzsäure eine Farbenreaktion, durch welche sie sich von den Pentosen unterscheiden lässt. Nach B. Tollens verfährt man folgendermassen: Zu 5—6 ccm Harn werden in einem 15—20 mm weiten Reagenzrohr 0,5—1 ccm einer 1%igen alkoholischen Lösung von Naphthoresorcin hinzugegeben und dann das gleiche Volum Salzsäure (1,19 D). Es wird dann langsam zum Kochen erwärmt und unter Bewegung des Rohres 1 Minute gelinde gekocht. Dann setzt man das Rohr beiseite und schüttelt es nach 4 Minuten unter einem Wasserstrahl bis zum Erkalten. Dann giesst man das gleiche Volum Äther hinzu, schüttelt gut durch und bringt nach dem Absitzen die Ätherschicht vor den Spalt des Spektralapparates.

Der Äther ist bei Anwesenheit von Glykuronsäure blau bis violett gefärbt; bei Anstellung der Probe im Harn ist die Probe mehr rot (Tollens). Nach Neuberg[3]) schwankt die Farbe bei Verwendung von Glykuronsäure nur wenig, bei Anstellung der Probe im Harn dagegen sind die Schwankungen bedeutend. Auch Tollens gibt später an, dass im Harn bei Gegenwart von Pentosen und Glycosen die Farbe rot bis rotbraun sein kann. — Die Ätherlösung zeigt eine dunkle Spektralbande etwas rechts von und auf der D-Linie liegend.

Die Reaktion ist mit Lösungen, die 0,1% Glykuronsäurelacton enthalten, noch sehr stark.

Wenn der Äther sich langsam absetzt, oder wenn sich beim Schütteln mit Äther eine dunkle Schicht an den Wandungen des Glases

[1]) H. J. Wheeler u. B. Tollens, Ann. d. Chem. **254**. 333; **260**. 305. — Günther, de Chalmot und Tollens, Ber. d. chem. Gesellsch. **25**. 2569. — v. Udránsky, Zeitschr. f. phys. Chem. **12**. 389. — E. Luther, Über das Vorkommen von Kohlenhydraten im normalen Harn. Diss. 1890. 37.

[2]) B. Tollens, Ber. d. chem. Gesellsch. **41**. 1788. 1908.

[3]) C. Neuberg, Biochem. Zeitschr. **24**. 436. 1910. — B. Tollens, Abderhaldens Handb. d. Biochem. Arbeitsmethoden II. 98. 1910.

Digitized by Google

festsetzt, dann hilft zuweilen der Zusatz von einigen Tropfen Alkohol, oder man setzt noch etwas Äther hinzu und bewegt nunmehr das Reagenzglas gelinde hin und her.

Arabinose, Xylose, Rhamnose, Glucose, Galaktose, Rohrzucker, Fucose geben bei Anstellung der Reaktion, wenn keine Glykuronsäure zugegen ist, nur gelbliche Ätherlösungen ohne spektrale Bande (B. Tollens).

Die Reaktion ist aber nicht eindeutig auf Glykuronsäure zu beziehen. Nach Neuberg und Mandel[1]) tritt dieselbe in ganz ähnlicher oder gleicher Weise mit fast allen Carbonylsäuren ein, d. h. mit Säuren, die irgendwie die Gruppierung $\begin{array}{c}COOH\\|\\COH\end{array}$ oder $\begin{array}{c}COOH\\|\\CO\end{array}$ enthalten. Über das Vorkommen derartiger Carbonylsäuren in der Natur liegen Erfahrungen nicht vor. C. Tollens[2]) glaubt daher die Naphthoresorcinreaktion, falls sie im Harn positiv ausfällt, sicher auf Glykuronsäure beziehen zu können. Neuberg hat aber mehrfach gezeigt, dass diese Carbonylsäuren leicht aus zahlreichen Naturstoffen, Alkoholen, Mono- und Dicarbonsäuren, Kohlehydraten, Aminosäuren, Proteinen, Purinen, durch Einwirkung des Lichtes oder des elektrischen Stromes entstehen. Er betrachtet daher die Naphthoresorcinprobe bei richtiger Anstellung nur als eine ausgezeichnete Probe auf Carbonylsäuren ganz allgemein und warnt zur Vorsicht, wenn es gilt, diese Probe auf die Glykuronsäure des Harns im speziellen anzuwenden.

Nach Neuberg können im Harn Substanzen auftreten, welche die Naphthoresorcinprobe stärker erscheinen lassen, als dem vorhandenen Glykuronsäuregehalte entspricht. Das geht daraus hervor, dass man nicht selten Harne beobachten kann, welche eine erhebliche Naphthoresorcinprobe geben, aber nicht die Orcinprobe; eine Angabe, die durch Beobachtungen von Ellenbeck[3]) bestätigt wird.

Andererseits gibt es Fälle, in denen die Naphthoresorcinprobe negativ ist, trotz unzweifelhafter Anwesenheit von Glykuronsäure. Es liegt das an der Gegenwart von Stoffen, welche das Naphthoresorcin abfangen. Als solche kommen in Betracht: Traubenzucker, Formaldehyd, Acetaldehyd (Jolles), ferner sämtliche Kohlehydrate, Aceton, Acetessigsäure, ferner alle Stoffe, welche bei Anstellung der Probe mit Salz-

[1]) J. A. Mandel u. C. Neuberg, Biochem. Zeitschr. **13**. 148. 1908.
[2]) C. Tollens, Münch. med. Wochenschr. **56**. 562. 1909. — Zeitschr. f. phys. Chem. **61**. 109. 1909.
[3]) H. Ellenbeck, Biochem. Zeitschr. **24**. 34. 1910.

Digitized by Google

säure Carbonylverbindungen abspalten wie Allantoin, Polysaccharide, Nucleinsäuren (Neuberg). Besonders hindernd sind nach Neuberg Fruchtzucker, Saccharose und Pentosen. Eine Entfernung gärungsfähiger Zucker durch Hefe empfiehlt sich nicht, da bei der Gärung mit Naphthoresorcin reagierende Stoffe in Lösung gehen können (Neuberg). — Auch Sittig[1]) beschreibt Fälle, in denen sich dem Harn zugesetzte Glykuronsäure dem Nachweis durch die Naphthoresorcinprobe entzog.

19. Glykuronsäure gibt die Xylidinreaktion sowie die Reaktion mit Anilinacetat (s. S. 322) sehr stark.

20. Die Goldschmiedtsche[2]) Reaktion der Glykuronsäure mit α-Naphthol. Glykuronsäure gibt mit α-Naphthol und Schwefelsäure eine Grünfärbung. $^1/_2$—1 ccm Harn wird mit 2 Tropfen 15%iger (kalt gesättigter) alkoholischer α-Naphthollösung versetzt und mit 3—4 ccm konz. Schwefelsäure vorsichtig unterschichtet oder besser noch die mit α-Naphthol versetzte Harnprobe vorsichtig auf die Schwefelsäure fliessen gelassen. An der Berührungsstelle der Schichten erscheint ein violetter Ring (s. S. 318), der beim ruhigen Stehen nach der Harnseite an Breite zunimmt, während infolge Diffusion des Harns in die Schwefelsäure diese von der Grenzfläche aus sich grün färbt; manchmal sieht man auch dunkelgrüne Schlieren sich nach unten verbreiten. Mischt man nun die beiden Schichten, so wird die grüne Farbe verdeckt durch die dunkle Färbung, die der Harn auf Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure allein annimmt.

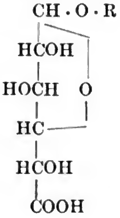
Die gleiche Grünfärbung tritt bei Abwesenheit von Glykuronsäure ein, sobald Spuren von Nitraten und Nitriten vorhanden sind (Goldschmiedt, v. Udránsky). Der Harn muss also nitratfrei sein, wenn die Reaktion für Glykuronsäure beweisend sein soll. Der Harn darf also keine Reaktion mit Diphenylamin geben. Dann ist derselbe für diese Glykuronsäureprobe verwertbar (Mayerhofer[3])). Auch die verwendete Schwefelsäure muss nitratfrei sein (s. S. 320). Der Harn des Menschen ist nitratfrei bei nitratfreier Kost (Milch, Weissbrot, Fleisch), auch der Hundeharn ist bei Fleischkost nitratfrei; ebenso ist der Kaninchenharn nitratfrei.

C. Über quantitative Bestimmung siehe bei gepaarten Glykuronsäuren.

[1]) A. Jolles, Ber. d. pharmaz. Gesellsch. 19. 477. 1909. — C. Neuberg, l. c. — O. Sittig, Biochem. Zeitschr. 21. 14. 1909.
[2]) G. Goldschmiedt, Zeitschr. f. phys. Chem. 65. 389. 1910; 67. 194. 1910.
[3]) L. v. Udransky, Zeitschr. f. phys. Chem. 68. 88. 1910. — E. Mayerhofer, Ebenda 70. 391. 1911.

Digitized by Google

II. Gepaarte Glykuronsäuren.



1. Allgemeines.

Die gepaarten Glykuronsäuren, glykosidartige Verbindungen verschiedener fetter Alkohole und Phenole mit der Glykuronsäure und wie diese selbst einbasische Säuren, haben fast alle die gemeinsame Eigenschaft, die Ebene des polarisierten Lichtes nach links zu drehen, sind aber in anderen allgemeinen Eigenschaften voneinander verschieden. Sie spalten sich durch Aufnahme von 1 Mol. Wasser in Glykuronsäure und die zugehörigen Alkohole; bei den meisten erfolgt diese Zersetzung erst beim Kochen mit verdünnten Säuren oder beim Überhitzen mit Wasser, andere zersetzen sich dagegen schon in wässeriger Lösung bei der Wärme des Wasserbades (Bromphenolmercaptur-Glykuronsäure) oder bei gewöhnlicher Temperatur (eine Terpen-Glykuronsäure). Einige von ihnen (Urochloralsäure, Uronitrotoluolsäure, Benzoeglykuronsäure, Bromphenolmercaptur-Glykuronsäure, Paramidophenol-Glykuronsäure) reduzieren, wie Zucker, Kupferoxyd und andere Metalloxyde in alkalischer Lösung, wieder andere (Butylchloralsäure, Trimethylcarbinol- und Dimethyläthylcarbinol-Glykuronsäure, Phenolglykuronsäure, Chinäthonsäure, Camphoglykuronsäure) tun es nicht, auch wenn sie, wie einige von ihnen, Kupferhydrat bei Gegenwart von Alkalihydrat in Lösung halten. Die Urochloralsäure, die Phenol-, Naphthol-, Menthol- und Borneolglykuronsäure werden durch Bleiessig gefällt, die Trimethylcarbinol- und Dimethyläthylcarbinol-Glykuronsäure, die Camphoglykuronsäure dagegen nicht. — Die gepaarten Glykuronsäuren sind grossenteils in Alkohol-Äther unlöslich. Auch durch Fermente (Emulsin, Kefirlaktase [Neuberg und Neimann], Myrosin [Hildebrandt], Hundeleberextrakt [Röhmann][1])) werden die gepaarten Glykuronsäuren gespalten.

[1]) C. Neuberg u. W. Neimann, Zeitschr. f. phys. Chem. 44. 97. 1905. — H. Hildebrandt, Beitr. z. chem. Phys. u. Path. 7. 438. 1906. — F. Röhmann, Biochemie. Berlin. Verlag Jul. Springer. 1908. 197.

Digitized by Google

Die glykosidartige Beschaffenheit der gepaarten Glykuronsäuren wurde von E. Fischer und Piloty, Sundvik, Neuberg und Neimann dargetan. Die Bindung kann, wie bei den Zuckerarten, durch eines der zwei in der Aldehydgruppe des Glykuronsäurehydrats — $CH(OH)_2$ enthaltenen Hydroxyle erfolgen. Bei der Spaltung tritt nicht das Hydrat der Glykuronsäure mit — $CH(OH)_2$, sondern das Anhydrid (die gewöhnliche Glykuronsäure) mit — CH.O auf, und daraus erklärt sich, worauf Graebe[1]) zuerst aufmerksam gemacht hat, dass die Spaltung dann ohne Aufnahme von Wasser erfolgt.

Neuerdings ist eine zweite Klasse von gepaarten Glykuronsäuren bekannt geworden, in der nicht Alkohole, sondern organische Säuren die Paarlinge der Glykuronsäure sind; hierher gehören die Benzoeglykuronsäure ($C_{13}H_{14}O_8$), Dimethylamidobenzoeglykuronsäure ($C_{15}H_{19}NO_8$), Salicylglykuronsäure ($C_{13}H_{12}O_8$), Rübenharzsäureglykuronsäure ($C_{28}H_{44}O_8$).

Diejenigen Alkohole, welche sich im Körper mit der Glykuronsäure verbinden können, vereinigen sich direkt mit ihr. Kohlenwasserstoffe werden vorher zu Alkoholen oxydiert, Aldehyde zu Alkoholen reduziert. Die Ketone unterliegen zum Teil ebenfalls einer Reduktion zu sekundären Alkoholen und werden als solche mit Glykuronsäure gepaart (Neubauer[2])). Manche der Alkohole, wie das Phenol, das Kairin, erscheinen nur dann als gepaarte Glykuronsäuren im Harn, wenn die verfügbare Schwefelsäure bereits an die Phenole gebunden ist, andere, wie das Naphthol, das Indol, treten sofort als gepaarte Glykuronsäuren auf. Zur Gewinnung der gepaarten Glykuronsäuren hat man sich bisher im wesentlichen der Mithilfe des tierischen Organismus bedient; die Organismen der Hunde, Kaninchen und Menschen sind bei dieser Synthese nicht gleichwertig. Die synthetische Darstellung ist in einer Reihe von Fällen unternommen worden.

Die Zahl der Stoffe, die mit Glykuronsäure gepaart werden können, ist ausserordentlich gross. Im nachfolgenden sind die Zusammenstellungen von C. Neuberg[3]) im wesentlichen zugrunde gelegt. Zunächst in der aliphatischen Reihe. Für Äthylalkohol und seine Homologen bis zum Oktylalkohol hat das Neubauer nachgewiesen. Gepaarte Glykuronsäuren geben der Trichloräthyl- und der Trichlorbutylalkohol (CCl_3—CH_2.OH und CH_3—CCl_2—CHCl—CH_2.OH) (E. Külz[4]), der tertiäre Butylalkohol (Trimethylkarbinol $(CH_3)_3$—C.OH) und der tertiäre Amylalkohol (Dimethyl-Äthylkarbinol $(CH_3)_2$—C.OH—C_2H_5) (beim Kaninchen, nicht beim Hund und beim Menschen), wahrscheinlich auch das Pinakon (Hexylenglykol $(CH_3)_2$—C.OH—C.OH—$(CH_3)_2$) (beim Kaninchen) (Thierfelder und v. Mering), Methyläthylpropylkarbinol (Magnus-Levy), Propylenglykol (Neubauer), ungesättigte Alkohole wie Nerol, Geraniol (Hilde-

[1]) E. Fischer, Ber. d. chem. Gesellsch. **26**. 2041. — E. Fischer u. O. Piloty, Ebenda **24**. 522. 1891. — E. Sundvik, Abhandl. Helsingfors 1886. Jahresb. f. Tierch. **16**. 76. 1886. — C. Neuberg u. W. Neimann, Zeitschr. f. phys. Chem. **44**. 97. 1905. — C. Graebe, Ann. d. Chem. **254**. 278. 1889.

[2]) O. Neubauer, Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. **46**. 133. 1901.

[3]) C. Neuberg, Ergebn. d. Phys. von Asher u. Spiro. **3**. 1. 431. — Der Harn. Verlag Springer 1911. 437 ff.

[4]) E. Külz, Zeitschr. f. Biol. **20**. 157. 1884.

Digitized by Google

brandt). Dem Trichloräthyl- und dem Trichlorbutylalkohol gleichwertig sind ihre Aldehyde, das Chloralhydrat und das Butylchloralhydrat, welche nach vorläufiger Reduktion zu den Alkoholen dieselben Produkte, Urochloral- und Urobutylchloralsäure (Trichloräthyl- und Trichlorbutyl-Glykuronsäure) liefern (Musculus und v. Mering, E. Külz, R. Külz), das Chloral nach Bongers auch bei Hühnern. — Auch Bromol wird mit Glykuronsäure gepaart (Maraldi[1])).

Nach der Verfütterung von Dichloraceton und von Acetessigäther stellte Sundvik aus dem Harn geringe Mengen von Glykuronsäurederivaten dar, welche er für Abkömmlinge des Dichlorisopropylalkohols und des Isopropylalkohols (CH_3—CH . OH—CH_3) zu halten geneigt ist. — Nach dem Gebrauch von Chloroform dreht der Harn links und reduziert (von Mering, Zeller). A. Kast gibt an, nach längerer Chloroformnarkose enthalte der Harn eine reduzierende, nicht flüchtige chlorhaltige Säure, möglicherweise ein Abkömmling des Trichlormethylalkohols. In ähnlichen Fällen fand E. Külz [2]) keine Urochloralsäure im Harn.

Für Aceton und seine Homologen (Neubauer), für Acetylaceton, von ungesättigten Kohlenwasserstoffen für Trimethyläthylen, Oktylen (Neubauer), für β-Citral, einen ungesättigten Aldehyd (Hildebrandt), für Mesityloxyd, ein ungesättigtes Keton (Neubauer) ist Bildung gepaarter Glykuronsäuren ebenfalls nachgewiesen.

Von Verbindungen der Glykuronsäure mit aromatischen Substanzen sind dargestellt und näher untersucht worden die Phenolglykuronsäure nach Verabreichung von Phenol (E. Külz) und Benzol (Schmiedeberg), Toluol, Xylol (Sundvik), Kresol (Wohlgemuth), α- und β-Naphtholglykuronsäure nach den Naphtholen $C_{10}H_7$. OH oder Estern derselben (Lesnik und Nencki), die Euxanthinsäure $C_{19}H_{16}O_{10}$ nach Euxanthon $C_{13}H_6O_2\,(OH)_2$ (v. Kostanecki, E. Külz, P. Mayer), nachdem die Konstitution der Säure von Baeyer und Spiegel erkannt war, zwei verschiedene Säuren nach Verfütterung von Menthol $C_{10}H_{19}$. OH und Borneol $C_{10}H_{17}$. OH (Pellacani, Bonani, Fromm, Hildebrandt und Clemens, Neuberg und Lachmann, Hämäläinen. Die aufgezählten Substanzen vereinigen sich direkt mit der Glykuronsäure. Die weiterhin genannten hydroxyllosen Verbindungen erfahren vorher eine Oxydation; der d-Campher $C_8H_{14}\left\{\begin{array}{l}CH_2\\ \dot{C}O\end{array}\right.$ wird zu Campherol $C_8H_{14}\left\{\begin{array}{l}CH\,.\,OH\\ \dot{C}O\end{array}\right.$ und gibt dann die Camphoglykuronsäure (Schmiedeberg und Meyer), auch bei Hühnern (Bongers); für l-Campher wurde die Paarung nachgewiesen von Magnus-Levy, für d,l-Campher von P. Mayer, Hämäläinen, für Fenchon, Carvon von Rimini, für Menthon, Thujon, Carvon v. Fromm, Hildebrandt und Clemens, für Oxycampher von Magnus-Levy. Das Terpentinöl $C_{10}H_{16}$ gibt Terpinol $C_{10}H_{15}$. OH und darnach die Terpenoglykuronsäure (Schmiedeberg, Külz [3]).

---

[1]) H. Thierfelder u. J. v. Mering, Zeitschr. f. phys. Chem. **9**. 511. 1885. — A. Magnus-Levy, Biochem. Zeitschr. **2**. 330. 1907. — O. Neubauer, l. c. — H. Hildebrandt, Beitr. z. chem. Phys. u. Path. **4**. 251. 1904. — Musculus u. v. Mering, a. a. O. — v. Mering, Berichte d. chem. Gesellschaft. **15**. 1019. 1882; Zeitschr. f. phys. Chem. **6**. 480. 1882. — E. Külz, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1881. 337; Pflügers Archiv **28**. 506. 1882. — R. Külz, Pflügers Archiv **33**. 221. 1884. — P. Bongers, Diss. Königsberg 1887; Zentralbl. f. d. med. Wiss. 1889. 238. — G. Maraldi, Boll. di chim. e di Farm. **42**. 81. 1903.

[2]) Sundvik, Jahresber. f. Tierch. 1886. 76. — v. Mering, Berliner klin. Wochenschr. 1874. 246. — A. Zeller, Zeitschr. f. phys. Chem. **8**. 75. — A. Kast, Berliner klin. Wochenschr. 1888. 37; Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1888. 585; Chem. Zentralbl. 1888. 758; Jahresber. f. Tierch. **18**. 158. — E. Külz, Zeitschr. f. Biol. **20**. 157. f.

[3]) E. Külz, Pflügers Archiv **30**. 484. 1883. — Schmiedeberg, Archiv f. exper. Pathol. **14**. 307. Sundvik l. c. — J. Wohlgemuth, Berliner klin. Wochenschr. 1904. 1084. — Zeitschr. f. klin. Med. **56**. 407. 1905. — M. Lesnik u. M. Nencki,

Digitized by Google

Gepaarte Glykuronsäuren sind ferner erhalten worden vom Hydrochinon und Resorcin $C_6H_4(OH)_2$ (Külz), die Hydrochinonglykuronsäure auch nach Chinon $C_6H_4O_2$ (Schulz), und ebenso liefert Chloranil (Tetrachlorchinon, $C_6Cl_4O_2$) Tetrachlorhydrochinonglykuronsäure (Schulz). Das Phenetol $C_2H_5 . O . C_6H_5$ wird wahrscheinlich zu Paraoxyphenetol, dem Äthyläther des Hydrochinons, $C_2H_5 . O . C_6H_4 . OH$ oxydiert und liefert dann die Chinäthonsäure $C_{14}H_{18}O_2$ (Kossel), Orthonitrotoluol $NO_2—C_6H_4—CH_3$ gibt Orthonitrobenzylalkohol $NO_2 . —C_6H_4—CH_2 . OH$ und darauf Uronitrotoluolsäure (Jaffé). Das Thymol $C_3H_7 . CH_3 . C_6H_3 . OH$ gibt Thymolglykuronsäure (Külz, Blum), das Acetophenon $C_6H_5 . CO . CH_3$ (Sundvik), das Resacetophenon $C_6H_3 (OH)_2 . CO . CH_3$ und das Paraoxypropiophenon $C_6H_4(OH) . CO . CH_2 . CH_3$ die entsprechenden Verbindungen (Nencki). Aus den gepaarten Glykuronsäuren, welche nach Verabreichung von Acetanilid $CH_3 . CO—NH . C_6H_5$ entstehen, haben Jaffé und Hilbert beim Kaninchen Paramidophenol $H_2N . C_6H_4 . OH$ dargestellt, beim Hund Ortho-Oxycarbanil $C_6H_4\left\langle {N \atop O} \right\rangle C . OH$, welches aus der Ortho-Phenolcarbaminsäure $C_6H_4<{NH . COOH \atop OH}$ durch Austritt von H_2O entstanden ist. Die dabei beim Menschen auftretende Glykuronsäure ist nach Mörner entweder Paramidophenol- oder Acetylparamidophenol-Glykuronsäure. Orthoacettoluid $CH_3 . CO—NH . C_6H_4 . CH_3$ liefert nach Jaffé und Hilbert beim Hund und beim Kaninchen Methyloxycarbanil. Sehr wahrscheinlich erfolgt die Bildung von Glykuronsäure auch nach der Darreichung von Chloranilsäure $C_6Cl_2(OH)_2O_2$ (Schulz) und von Gallacetophenon $C_6H_2(OH)_3 . CO . CH_3$ (Rekowski [1]).

Eigenartig verhalten sich das Chlor-, Jod- und das Brombenzol $C_6H_5 . Br$. Diese gehen als Para-, Chlor- oder Jod- oder Bromphenol $HO . C_6H_4 . Br$ zunächst in Chlor-, Jod- oder Bromphenylmercaptursäure, Abkömmlinge des Cystins über (s. dort). und erst diese Säuren geben eine den gepaarten Glykuronsäuren analoge linksdrehende, reduzierende, durch Bleizucker nicht fällbare Verbindung; das der Glykuronsäure entsprechende Spaltungsprodukt, das sich im übrigen wie diese verhält, dreht jedoch, wie die Glykuronsäure aus Uronitrotoluolsäure, nicht rechts, sondern links und gibt mit Baryumhydrat kein schwer lösliches basisches Salz (Baumann). Auch ist auffällig, dass die gepaarte Chlorphenylmerkaptur-

---

Berichte d. chem. Gesellsch. **19**. 1534; Archiv f. exper. Pathol. **24**. 168. 1887. — St. v. Kostanecki, Berichte d. chem. Gesellsch. **19**. 2918. 1886. — P. Mayer, Zeitschr. f. klin. Med. **47**. 68. 1902. — E. Külz, Zeitschr. f. Biol. **23**. 475. 1887. — Baeyer, Ann. d. Chem. u. Pharm. **155**. 257. — Spiegel, Ber. d. chem. Gesellsch. **15**. 1965. — Pellacani, Archiv f. exper. Path. **17**. 388. 1883. — A. Bonani, Beitr. f. chem. Phys. u. Path. **1**. 304. 1902. — E. Fromm, H. Hildebrandt u. P. Clemens, Zeitschr. f. phys. Chem. **37**. 189. 1902. — C. Neuberg u. S. Lachmann, Biochem. Zeitschr. **24**. 416. 1910. — J. Hämäläinen, Chem. Zentralbl. 1910. I. 44. 1443. — Schmiedeberg u. Meyer, Zeitschr. f. phys. Chem. **3**. 422. — Bongers, a. a. O. — Schmiedeberg, Archiv f. exper. Path. **14**. 308. — E. Külz, Pflügers Archiv **28**. 518; **30**. 485; Zeitschr. f. Biologie **27**. 254. 1890. — A. Magnus-Levy, Biochem. Zeitschr. **2**. 319. 1906. — P. Mayer, Ebenda **9**. 439. 1908. — J. Hämäläinen, Skadinav. Arch. f. Phys. **32**. 97. 1909. — E. Rimini, Atti della R. Acc. dei Lincei Roma [5] **10**. I. 244. 1901. — Chem. Zentralbl. 1909. II. 1645.

[1]) E. Külz, Zeitschr. f. Biol. **27**. 250. — O. Schulz, Dissert. Rostock 1892; Jahresber. f. Tierch. 1892. 77. — Kossel, Zeitschr. f. phys. Chem. **4**. 296. 1880; **13**. 181. 1888. — M. Jaffé, Zeitschr. f. phys. Chem. **2**. 47. 1878. — Külz, a. a. O. 252. — F. Blum, Deutsche med. Wochenschr. 1891. 186; Zeitschr. f. phys. Chem. **16**. 514. 1892. — M. Nencki, Arch. des sc. biol. **3**. 120. 1894. — Jaffé u. P. Hilbert, Zeitschr. f. phys. Chem. **12**. 295. 1888. — K. A. H. Mörner, Zeitschr. f. phys. Chem. **13**. 23. 1888. — Rekowski, Therap. Monatshefte, September 1891; Archiv des sc. biol. **3**. 124.

Digitized by Google

säure bei ihrer Spaltung ihre Azidität verdoppelt (Baumann und Preusse, Jaffé[1]). (Näheres siehe bei Merkaptursäuren).

Ausser den genannten Substanzen ist noch eine grosse Reihe solcher bekannt, nach deren Zufuhr der Harn links dreht, was zu der allerdings nicht völlig sicheren Annahme bewogen hat, dass auch diese gepaarte Glykuronsäuren liefern könnten. Dies ist der Fall nach E. Külz bei den Phenolen Kresol $CH_3 . C_6H_4 . OH$, Guajacol $CH_3 . O . C_6H_4 . OH$ (auch nach Eschle), Brenzkatechin $C_6H_4(OH)_2$, Orcin $CH_3 . C_6H_3(OH)_2$, den Chlorphenolen $Cl . C_6H_4 . OH$, o- und p-Nitrophenol $NO_2 . C_6H_4 . OH$, bei den Kohlenwasserstoffen Xylol $C_6H_4(CH_3)_2$, Cumol $C_6H_5 . CH(CH_3)_2$, Dichlorbenzol $C_6H_4Cl_2$, ferner beim Amidobenzol (Anilin) $C_6H_5 . NH_2$, Azobenzol $(C_6H_5N)_2$, Hydrazobenzol $(C_6H_5 . NH)_2$, Indol C_8H_7N (auch nach Wang und Austein), nach G. Hoppe-Seyler bei der Orthonitrophenylpropiolsäure, nach Jolles beim Benzosol (Benzoylguajakol), nach F. Müller beim Phenetidin $H_2N . C_6H_4 . O . C_2H_5$ und nach v. Mering auch beim Nitrobenzol $C_6H_5 . NO_2$. Das Anisol $CH_3 . O . C_6H_5$ verhält sich nach Kossel dem Phenetol ähnlich. Nach grossen Dosen Kairin $C_9H_9(C_2H_5)N . OH$ dreht der Harn links und reduziert (v. Mering), ebenso nach Morphin $C_{17}H_{12}NO(OH)_2$ (v. Mering, Sundvik, P. Mayer), nach Skatol (Mester) und nach Bittermandelöl (Benzaldehyd) $C_6H_5 . COH$ (v. Mering[2]).

Zufuhr von Benzoësäure bewirkt Linksdrehung des Harns und schwache Reduktion (Salkowski), die von Salizylsäure gleichfalls Linksdrehung und starke Reduktion (Byasson, v. Jaksch). Nach der Zufuhr von Copaivaöl (Quincke), sowie von Bromnaphthalin $C_{10}H_7Br$ (Baumann und Preusse), dreht der Harn links. Die Linksdrehung, welche Lewin nach der Verabreichung von Santonin am Harn wahrnahm, ist nach Jaffé[3]) nicht auf die Bildung einer gepaarten Glykuronsäure zu beziehen, sondern rührt von dem stark linksdrehenden Santogenin her. Näheres siehe bei den einzelnen Substanzen.

Ausser diesen gepaarten Glykuronsäuren sind gepaarte Glykuronsäuren beobachtet nach Darreichung von: Äthylbenzol, Styrol (Neubauer) m-Methylisopropylbenzol, Cymol (Hildebrandt), Kreosot, Lysol, Carvacrol und ihren Substitutionsprodukte mit Halogen-, Nitro-Aminogruppen (Hildebrandt), Parathymotinalkohol (Hildebrandt), Paradimethylaminobenzaldehyd (Jaffé). — Ferner in der hydroaromatischen Reihe: Kohlenwasserstoffe wie Menthen (Neubauer), Limonen, Camphen, Phellandren, Sabinen (Fromm, Hildebrandt, Clemens); Alkohole wie Rhododendrol (Archangelski), Cyclogeraniol (Hildebrandt), Cineol (Hämäläinen), Camphenglykol (Fromm, Hildebrandt, Clemens). Ferner von heterozyklischen Verbindungen: Thymotinpiperidid

[1]) Baumann, Zeitschr. f. phys. Chem. 8. 193. — Baumann u. Preusse, Zeitschr. f. phys. Chem. **3**. 159. 1879; **5**. 309. 1881; Berichte d. chem. Gesellsch. **12**. 806. 1879. — Jaffé, Berichte d. chem. Gesellsch. **12**. 1093. — Schmitz, Über p-Jodphenylmerkaptursäure. Dissert. Freiburg i. B. 1886. — Baumann u. Schmitz, Zeitschr. f. phys. Chem. **20**. 586.

[2]) E. Külz, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1881. 337; Pflügers Archiv **30**. 518. — Eschle, Zeitschr. f. klin. Med. **29**. 197. 1896. — E. Wang, Zeitschr. f. phys. Chem. **27**. 557. 1899. — A. E. Austein, Salkowski-Festschrift 1904. 53. — G. Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. phys. Chem. **7**. 179 u. 425. — v. Mering, Berichte d. chem. Gesellsch. **15**. 1020. 1882. — A. Kossel, a. a. O. — v. Mering, Zeitschr. f. klin. Med. **7**. Suppl. 149. — v. Mering, Berliner klin. Wochenschr. 1874. 246. — E. Sundvik, Jahresber. f. Tierch. 1886. 78. — B. Mester, Zeitschr. f. phys. Chem. **12**. 132. — v. Mering, Zeitschr. f. phys. Chem. **6**. 494. — P. Mayer, Berl. klin. Wochenschr. 1899. Nr. 27. u. 28.

[3]) Salkowski, Zeitschr. f. phys. Chem. **4**. 135. 1880. — Byasson, Journ. de thérap. **4**. 721. 1877; Jahresber. f. Tierchemie 1877. 237; Chem. Zentralbl. 1879. 21. — v. Jaksch, Klinische Diagnostik. 4. Aufl. 1896. 483. — H. Quincke, Archiv f. exper. Path. **17**. 273. — Baumann u. Preusse, Zeitschr. f. phys. Chem. **5**. 340. — L. Lewin, Die Nebenwirkungen der Arzneimittel 1881. 245; Berliner klin. Wochenschr. 12. 1883. — Jaffé, Zeitschr. f. klin. Med. Suppl. zu **17**. 7. 1890.

Digitized by Google

(Hildebrandt), Oxychinoline (Brahm, v. Fenyvessy), Antipyrin (Lawrow), Pyramidon (Jaffé), Oxycumarin (Flatow)[1]).

Im übrigen siehe auch bei den einzelnen als Paarlinge in Betracht kommenden Stoffen.

2. Die Glykuronsäuren des normalen Harns.

Der normale Harn besitzt Eigenschaften, nach welchen man das Vorkommen gepaarter Glykuronsäuren in ihm vermuten kann. Wie Haas zuerst wahrnahm, dreht fast jeder normale Harn die Ebene des polarisierten Lichts nach links, eine Beobachtung, welche von Johannowsky, Galippe und E. Külz[2]) in zahlreichen Untersuchungen bestätigt wurde. Die Drehung ist gering, sie beträgt nach Haas —0,05 bis —0,17°, nach Johannowsky —0,01 bis 0,18°. Der Nachtharn dreht nach Haas weniger stark als der Nachmittagharn.

Nach Külz dreht auch der normale Harn von Kälbern, Kühen, Pferden und Schweinen links und zwar stärker, als der menschliche Harn. Der Harn hungernder Hunde dreht stark links, ohne β-Oxybuttersäure zu enthalten. Beim Kälberharn betrug die Drehung — 0,16 bis — 0,32°, beim Kuhharn — 0,11 bis — 0,27°, beim Pferdeharn — 0,11 bis — 0,21°, beim Schweineharn ebenso viel wie beim Pferdeharn. Eine schwache Linksdrehung nahm Roos[3]) beim Harn von Hund, Kaninchen und Pferd wahr. Auch in pathologischen Harnen kommt linksdrehende Substanz vor; nach E. Külz in vergorenem diabetischen Harn (in 8 von 52 Fällen) eine durch Bleiessig und Ammoniak fällbare, die also nicht β-Oxybuttersäure sein konnte.

Haas hat von der fraglichen Substanz weiter folgende Eigenschaften ermittelt.

Sie dreht links in saurer, neutraler und alkalischer Lösung. Macht man jedoch den Harn mit Ammoniak oder kohlensaurem Natron stark alkalisch, so wird die Flüssigkeit optisch inaktiv. In den möglicherweise entstandenen Niederschlägen ist die Substanz nicht enthalten. Säuert man die Lösungen (oder die Filtrate) wieder an, so drehen sie wieder links.

Die Substanz ist nicht flüchtig. Durch Eindampfen des Harns steigt die Stärke der Drehung mit der Konzentration; das Destillat ist dagegen optisch inaktiv. Alkohol entzieht dem zu Syrupkonsistenz eingedampften Harn die drehende Substanz. Tierkohle nimmt (aus dem eingedampften Harn) einen Teil der drehenden Substanz auf, gibt sie aber darauf an destilliertes Wasser nur unvollständig wieder

[1]) O. Neubauer, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **46**. 133. 1901. — H. Hildebrandt, Zeitschr. f. phys. Chem. **36**. 441. 1902. — Ebenda **43**. 263. 1904. — Beitr. f. chem. Phys. u. Path. **7**. 438. 1905. — M. Jaffé, Zeitschr. f. phys. Chem. **43**. 374. 1904. — E. Fromm, H. Hildebrandt u. P. Clemens, l. c. — E. Fromm u. H. Hildebrandt, Zeitschr. f. phys. Chem. **33**. 579. 1901. — K. Archangelski, Arch. f. exper. Path. u. Pharm. **46**. 313. 1901. — J. Hämäläinen, Skand. Arch. f. Phys. **23**. 97. 1909; **24**. 1. 1910. Chem. Zentralbl. 1910. I. 44 u. 1443. — C. Brahm, Zeitschr. f. phys. Chem. **28**. 439. 1899. — B. v. Fenyvessy, Ebenda **30**. 552. 1900. — D. Lawrow, Ber. d. chem. Gesellsch. **33**. 2345. 1900. — M. Jaffé, Ebenda **34**. 2737. 1901. — L. Flatow, Zeitschr. f. phys. Chem. **64**. 377. 1910.

[2]) H. Haas, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1876. 149. — Johannowsky, Archiv f. Gynäkologie **12**. 1877. — Galippe, Gazette méd. de Paris 1880. 259; Jahresber. f. Tierchem. 1880. 218. — E. Külz, Zeitschr. f. Biol. **20**. 166; **23**. 338.

[3]) E. Külz, a. a. O. **20**. 173. — E. Roos, Zeitschr. f. physiol. Ch. **15**. 533. 535. 538. 1891.

Digitized by Google

ab. Bleizucker und Bleiessig fällen den Körper nicht, wohl aber Bleiessig und Ammoniak. Ebenso vollständig wird die Substanz aus der bleihaltigen Lösung mit Bleisulfat durch Schwefelsäure gefällt. Zerlegt man die Bleiniederschläge durch Schwefelwasserstoff, so geht die drehende Substanz nicht in Lösung; siedendes Wasser, aber noch leichter Alkohol, nimmt aus dem Schwefelblei eine Substanz auf, welche nun rechts dreht. Die aus dem Schwefelblei gewonnenen Lösungen lösen nach Zusatz von Natronlauge viel Kupferhydrat, ohne es in der Wärme zu reduzieren; mit Salpetersäure und Natronlauge färben sie sich braungelb. — Galippe fügt diesen Beobachtungen noch hinzu, dass Quecksilberacetat die Linksdrehung des normalen Harns nicht vollständig beseitigt.

Die Pflanzenfresserharne verhalten sich nach E. Külz einigermassen anders als die menschlichen, insofern als zwar durch Bleizucker die Linksdrehung nicht beeinträchtigt wird, wohl aber das Fällen mit Bleiessig nur noch eine geringe optische Aktivität zurücklässt, welche durch nachträglichen Zusatz von Ammoniak vollends verschwindet. Es handelt sich hier vielleicht auch um mehrere Substanzen (auch Eiweisskörper?).

P. Mayer und C. Neuberg konnten bei Verarbeitung grösserer Mengen von normalem Harn (50 Liter) tatsächlich die gepaarten Glykuronsäuren isolieren und als Paarlinge Phenol, Kresol, Indoxyl feststellen. Die Menge betrug mindestens 0,004 g pro 100 ccm Harn. Auch Hervieux gelang dieser Nachweis auf ähnlichem Wege. — Tollens und Stern bestimmten nach ihrer Furfurolmethode (s. dort) die Menge der normalen Harnglykuronsäure zu 0,025% oder etwa 0,3—0,4 g pro die. Dementsprechend ist ja auch die Naphthoresorcinprobe für gewöhnlich im normalen Harn positiv. Auch in einer späteren Untersuchung fand Tollens ähnliche Werte. — Schulz[1]) bestimmte nach der Methode von Tollens die Menge der Harnglykuronsäure beim Menschen im Mittel zu 0,037%, beim Kaninchen zu 0,034%.

Über Phenolglykuronsäure, Kresolglykuronsäure, Indoxylglykuronsäure, Skatoxylglykuronsäure siehe bei den betreffenden Paarlingen.

3. Die unter besonderen Bedingungen auftretenden Glykuronsäuren.

Es sollen hier nur die wichtigsten, einigermassen genau bekannten Glykuronsäuren besprochen werden, soweit sie nicht schon bei den betreffenden Paarlingen besprochen sind. Auch hier ist im wesentlichen die Zusammenfassung von C. Neuberg in dessen Handbuch „Der Harn", S. 451—460, zugrunde gelegt.

1. Borneolglykuronsäure. Entsteht nach Darreichung von Borneol bzw. Borneolglykosid (Pellacani, Bonanni, Hildebrandt[2])). Der Harn wird zuerst mit essigsaurem Blei, das Filtrat

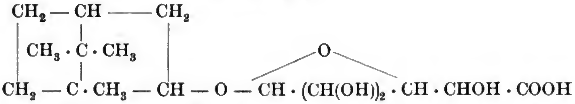
[1]) C. Tollens, Zeitschr. f. physiol. Ch. 67. 138. 1910. — F. N. Schulz, nicht veröffentlichte Untersuchungen.

[2]) P. Pellacani. Arch. f. exper. Pathol. und Pharm. 17. 369. 1883. — A. Bonanni, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 1. 304. 1902. — H. Hildebrandt, Biochem. Zeitschr. 21. 1. 1907.

Digitized by Google

mit basischem Bleiacetat gefällt. Der letztere Niederschlag wird chlorfrei gewaschen, mit SH_2 zerlegt und eingeengt.

a) d-Borneolglykuronsäure $C_{16}H_{26}O_7$;



hygroskopisch. Schmp. wasserfrei 164—165°; wasserhaltig 94—95°. In Wasser, Alkohol, Äther, Azeton, Chloroform löslich. Reduziert nicht direkt. $[\alpha]_D = -37{,}02^\circ$ (Hämäläinen). Na-Salz $C_{16}H_{25}O_7Na$ $[\alpha]_D = -36{,}37^\circ$ (Magnus-Levy[1]).

b) l-Borneolglykuronsäure. Smp. wasserhaltig 96—97°, wasserfrei 162 bis 163°. $[\alpha]_D^{20} = -69{,}03^\circ$. (Hämäläinen.) Na-Salz $[\alpha]_D^{20} = -66{,}83^\circ$ (Magnus-Levy).

c) d-l-Borneolglykuronsäure. $C_{16}H_{26}O_7 + H_2O$. Weisse Nadeln, hygroskopisch. Smp. 94—95°. Löslich in Wasser, Alkohol, Äther, Chloroform, Essigester, Pyridin, unlöslich in Ligroin und Petroläther. $[\alpha]_D = -47{,}93^\circ$. (Hämäläinen).

2. Camphenglykol-mono-glykuronsäure ($C_{16}H_{26}O_8$). Entsteht nach Verfütterung von Camphen (Fromm, Hildebrandt, Clemens[2])). Die freie Säure krystallisiert nicht. Das Kaliumsalz ($C_{16}H_{25}O_8K + H_2O$) ist leicht löslich in Wasser, krystallisiert; reduziert nicht. Mit Säuren tritt Spaltung ein.

3. Carbostyrilglykuronsäure ($C_{15}H_{17}O_8N$) (v. Fenyvessy). Nach dem Bleiverfahren isolierbar, schneeweisse, mikroskopische Krystalle. Schmelzpunkt 250—252° unter Verkohlung; schwer löslich in kaltem, leicht löslich in heissem Wasser, fast unlöslich in Alkohol, Äther, Chloroform, Benzol. Reduziert nicht. K-salz $[\alpha]_D = -85{,}17^\circ$.

4. Dichlorthymolglykuronsäure ($C_{16}H_{22}Cl_2O_8$). Aus Thymolharn (siehe dort) durch Einwirkung von HCl und unterchlorigsaurem Natrium sekundär durch Chlorierung darstellbar (Blum, Katsuyama und Hata, Hämäläinen[3])).

Thymolharn wird beim Stehen dunkel bis fast schwarz. Derselbe wird mit etwa $^1/_3$ seines Volum konz. HCl und dann mit mindestens ebensoviel einer verdünnten Lösung von unterchlorigsaurem Natron

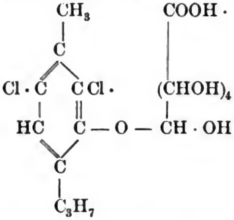
[1]) J. Hämaläinen, Skand. Arch. f. Physiol. 23. 86 u. 297. 1910. — A. Magnus-Levy, Biochem. Ztschr. 2. 319. 1907.

[2]) E. Fromm u. H. Hildebrandt, Ztschr. f. physiol. Chem. 33. 592. 1901. — H. Hildebrandt, ebenda 36. 447 u. 454. 1902. — E. Fromm, H. Hildebrandt u. Clemens, ebenda 37. 189. 1903.

[3]) F. Blum, Zeitschr. f. phys. Chem. 16. 514. 1892. — K. Katsuyama u. S. Hata, Ber. d. chem. Gesellsch. 31. 2583. 1898. J. Hämäläinen. Skandin. Archiv 24. 7. 1910.

Digitized by Google

versetzt. Beim Stehen (innerhalb 48—96 Stunden) scheiden sich zahlreiche bis 5 mm lange Krystallnadeln ab. Die Krystalle sowie ein ausgefallener gelber Brei werden auf einem Filter gesammelt, mit Wasser gewaschen und dann mit Sodalösung gelöst. Der Lösung werden durch Ausschütteln mit Äther Verunreinigungen (Thymolschwefelsäure,



Thymolhydrochinonschwefelsäure) entzogen. Beim Ansäuern der Lösung mit Schwefelsäure fällt nunmehr die reine Säure aus. — Schmelzpunkt 125—126⁰, unlöslich in kaltem Wasser, löslich in kochendem Wasser, leicht löslich in Alkohol, Äther, Aceton, Benzol, Alkalien. $\alpha]_D = -66{,}11^0$. Die Säure reduziert nicht direkt.

5. Die Euxanthinsäure = Euxanthonglykuronsäure $C_{19}H_{16}O_{10}$ setzt sich nach den Ermittelungen Graebes als Magnesium- und Calciumsalz aus dem Harn von Kühen ab, welche (in Indien) mit Mangoblättern gefüttert werden. Der gelbe Niederschlag wird zu Kugeln geformt, und diese kommen getrocknet als Indischgelb, Jaune indien, Puree (Pjuri) in den Handel. Man stellt die Säure nach Graebe in folgender Weise dar. Indischgelb (beste Sorte), in welchem die Säure als Mg-Salz neben Euxanthon enthalten ist, wird mit verdünnter Säure gut zerrührt, bis die Masse die hellgelbe Farbe der freien Säure angenommen hat, mit kaltem Wasser ausgewaschen, der noch feuchte Rückstand mit kohlensaurem Ammon behandelt, wobei die Euxanthinsäure unter Hinterlassung beigemengten Euxanthons in Lösung geht, und die Lösung mit Salzsäure gefällt. Die Säure krystallisiert aus Alkohol mit 1 Mol. H_2O in schön gelben Nadeln, löst sich schwer in kaltem, etwas besser in heissem Wasser, leicht in heissem Alkohol, sehr leicht in Äther. Sie enthält zwei durch Metall vertretbare Atome Wasserstoff, verbindet sich nicht mit Phenylhydrazin, Fehlingsche Lösung wird durch sie nicht reduziert. Sie schmilzt unter Zersetzung bei 156—158⁰ (Graebe), 161—162⁰ (Mann und Tollens), und wird nach Thierfelder bei einstündigem Erhitzen mit 100—200 Teilen Wasser auf 120—125⁰ teilweise, nach Mann und Tollens leichter durch einstündiges Erhitzen mit 10proz. Schwefelsäure auf 130—135⁰ in Euxanthon und Glykuronsäure zerlegt. $[\alpha]_D$ beträgt für die Euxanthinsäure — 110⁰. Die Säure fällt manchmal amorph oder gelatinös aus. Diese Modifikation färbt sich ebenso wie der Äthylester $C_{19}H_{15}O_{10} . C_2H_5$ (Smp. 198⁰) mit Jod blau. Neuberg und Neimann[1]) haben die Säure auch synthetisch dargestellt.

[1]) C. Graebe, Ann. d. Chem. **254**. 268. 1889. — Ber. d. chem. Gesellsch. **33**. 3360. 1901. — C. Graebe, R. H. Aders u. J. Heyer, Ann. d. Chem. **318**. 345. 1901. — F. Mann u. B. Tollens, Ann. d. Chem. **290**. 155. 1896. — K. H. Lefèvre u. B. Tollens, Ber. d. chem. Gesellsch. **40**. 4513. 1907. — H. Thierfelder, Zeitschr. f. phys. Chem. **11**. 390. 1887. — C. Neuberg u. W. Neimann, Zeitschr. f. phys. Chem. **44**. 119. 1905.

Digitized by Google

6. Camphoglykuronsäuren.

a) d-Camphoglykuronsäure ($C_{16}H_{24}O_8 + H_2O$) (Schmiedeberg u. Meyer). Im Harn nach Verfütterung von gewöhnlichem Campher. — Weisse, wachsartig glänzende Täfelchen, löslich in Wasser und Alkohol, unlöslich in Äther. Schmelzpunkt 128—130°. $[\alpha]_D = -32,85°$. Mit Barytwasser entsteht ein schwer lösliches basisches Barytsalz. Schön krystallisieren Strychnin- und Cinchoninsalz (Neuberg u. Weiss[1])).

b) l-Camphoglykuronsäure, sehr ähnlich der d-Verbindung. Schmelzpunkt 120—130° (Hämäläinen, Magnus-Levy). Strychninsalz ($C_{37}H_{40}N_2O_{10}$). Schmelzpunkt 189—195° (Magnus-Levy). Nach Darreichung von d-l-Campher erscheint verhältnismässig mehr l-Camphoglykuronsäure (Hämäläinen, P. Mayer[2])).

7. Mentholglykuronsäure ($C_{16}H_{28}O_7$). Entsteht nach Verfüttern von Menthol (Neuberg u. Lachmann). Der Harn wird mit Schwefelsäure angesäuert und dann mit $^1/_4$ Vol. Äther + $^1/_8$ Vol. Alkohol von 98% mehrfach geschüttelt. Der Ätherauszug wird mit konz. NH_3 bis zur alkalischen Reaktion versetzt und abgedampft. Das ausgeschiedene mentholglykuronsaure NH_3 wird in wenig heissem Wasser gelöst und mit Bleiessig und Ammoniak gefällt. Das Bleisalz wird mit SH_2 zerlegt, wonach die freie Säure auskrystallisiert. Man kann sie auch direkt aus dem NH_3-Salz durch Säure erhalten. — Die freie Säure enthält $1^1/_2$ Mol. Krystallwasser. Letzteres entweicht im Vakuum bei 80°. Die wasserfreie Säure sintert bei 92°, schmilzt bei 110°. $[\alpha]_D = -105°$ (nach H. Fischer $-104,5°$) in alkoholischer Lösung. Mentholglykuronsäure ist schwer löslich in kaltem Wasser, leicht in warmem, ziemlich leicht in Äther und Alkohol. Das Cadmiumsalz $[(C_{16}H_{27}O_7)_2Cd + 3H_2O]$ gibt bei 170° Wasser ab (Neuberg u. Lachmann, Bonanini, Fromm u. Clemens[3])).

8. Naphtholglykuronsäuren (s. Naphthalin und Naphthol).

a) α-Naphtholglykuronsäure ($C_{16}H_{16}O_7$). Lange Nadeln, leichter in Wasser löslich wie die β-Verbindung. Schmelzpunkt 202—203°, mit konz. Schwefelsäure intensive Grünfärbung (Lesnik u. Nencki[4])).

b) β-Naphtholglykuronsäure ($C_{16}H_{16}O_7 + 2H_2O$). Lange Nadeln, bei 100° Wasserverlust. Wenig löslich in kaltem, leicht löslich in heissem

[1]) C. Neuberg u. R. Weiss, Ergebn. d. Phys. **3**. I. 443. 1904.

[2]) J. Hämäläinen, Skand. Arch. f. Phys. **23**. 90. 297. 1909. — A. Magnus-Levy, Biochem. Zeitschr. **2**. 319. 1907. — P. Mayer, Biochem. Zeitschr. **9**. 439. 1908.

[3]) C. Neuberg u. S. Lachmann, Biochem. Zeitschr. **24**. 416. 1910. — H. Fischer, Zeitschr. f. phys. Chem. **70**. 256. 1911. — A. Bonanini, Beitr. z. chem. Phys. u. Path. **1**. 304. 1902. — E. Fromm u. P. Clemens, Zeitschr. f. phys. Chem. **34**. 385. 1902.

[4]) M. Lesnik u. M. v. Nencki, Ber. d. chem. Gesellsch. **19**. 1534. 1886.

Digitized by Google

Wasser, sowie in Alkohol und Äther. Schmelzpunkt 150°. $[\alpha]_D = -88°$ (Lesnik u. Nencki).

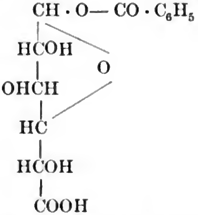
9. Nitrobenzylglykuronsäure (Uronitrotoluolsäure) $C_{13}H_{15}NO_9$ (Jaffé[1]). Nach Verfüttern von o-Nitrotoluol. Im Harn an Harnstoff gebunden ($C_{14}H_{19}N_3O_{10} + 2^1/_2 H_2O$). Schmelzpunkt 148 bis 149°; freie Säure hygroskopisch; krystallisiert langsam im Vakuum. Sie reduziert Fehlingsche Lösung direkt.

10. o-Oxychinolin-glykuronsäure ($C_{15}H_{15}NO_7$) (Hämäläinen). Entsteht nach Einführung von Chinosol (Brahm[2]). Sie fällt zum Teil schon beim Ansäuern des Kaninchenharns aus. Der Rest wird nach dem Bleiverfahren gewonnen. In Alkohol-Äther ist die Substanz unlöslich. — Die Säure ist sehr wenig löslich in kaltem, leicht löslich in heissem Wasser, reduziert Fehlingsche Mischung nicht. Für das K-salz (leicht löslich in Wasser) ist $[\alpha]_D = -83{,}8°$.

11. Phenetolglykuronsäure (Chinäthonsäure) (Kossel) ($C_2H_5O - C_6H_4 - O - C_6H_9O_6$). Nach Eingabe von Phenetol im Harn. Krystalle vom Schmelzpunkt 146° (Lehmann). Die Säure fällt bei Gegenwart löslicher ätherschwefelsaurer Salze durch $BaCl_2$ oder $Ba(OH)_2$ als unlösliches Ba-Doppelsalz gepaarter Schwefelsäure und gepaarter Glykuronsäure aus (Kossel, G. Hoppe-Seyler[3]); siehe auch bei Ätherschwefelsäurebestimmung.

12. Vanillinglykuronsäure $C_{14}H_{18}O_{11}$ entsteht nach subkutaner oder stomachaler Einführung von Vanillin (Kotake). Preusse[4]) hatte keine Paarung nachweisen können.

13. Benzoeglykuronsäure $C_{13}H_{14}O_8$.



Das Auftreten dieser Säure ist nach Verfütterung von Benzoesäure für den Hammelharn von Magnus-Levy nachgewiesen. Frühere

[1]) M. Jaffé, Zeitschr. f. phys. Chem. 2. 47. 1878.

[2]) J. Hämäläinen, Skand. Arch. f. Phys. 24. 1. 1910. — C. Brahm, Zeitschr. f. phys. Chem. 28. 439. 1899; 30. 559. 1900.

[3]) A. Kossel, Zeitschr. f. phys. Chem. 4. 292. 1880. — V. Lehmann, Ebenda 13. 181. 1888. — G. Hoppe-Seyler, Ebenda 7. 424. 1883.

[4]) Y. Kotake, Zeitschr. f. phys. Chem. 45. 320. 1905. — C. Preusse, Ebenda 4. 213. 1880.

Digitized by Google

Beobachtungen von Salkowski, Kobert, Siebert, Brugsch u. Hirsch, Jaffé[1]) deuten darauf hin, dass diese Säure auch bei Mensch, Hund, Kaninchen auftritt. — Magnus-Levy fand nach Eingabe von 30—35 g Benzoesäure pro die 11—17 g der gepaarten Glykuronsäure. — Eine Krystallisation der freien Säure ist bisher nicht gelungen. Die Lösungen der Säure drehen sehr stark rechts. Auch bei Zusatz von 5—10% Schwefelsäure bleibt die Rechtsdrehung bestehen. — Die Säure ist durch Mineralsäuren, Alkalien, sowie auch bei neutraler Reaktion in der Wärme leicht zersetzlich. — Die Säure gibt kräftige Orcinreaktion. — Das Strychninsalz $C_{34}H_{36}N_2O_{10} + 2(?)H_2O$ bildet weisse, rhombische Säulen und Platten. Schmelzpunkt 162° (unter Zersetzung); in kaltem Wasser, Alkohol, Chloroform schwer löslich, in der Hitze leicht löslich. Das Na-Salz $C_{13}H_{13}O_8Na$ hat $[\alpha]_D = +43{,}86^0$. — Die Anwesenheit der Säure im Harn ist wahrscheinlich, wenn der Harn nach Benzoesäureverfütterung stark rechts dreht, reduziert, ein Osazon gibt und nicht gärt. — Die Darstellung beruht auf der Zerlegung des Bleiessigniederschlages mit SH_2, Ausziehen der freien Benzoesäure mit Petroläther, Abtrennung der Hippursäure durch fraktionierte Behandlung mit Äther. Man erhält so die Säure in einer wässerigen Lösung, aus der sie mit Strychnin krystallinisch dargestellt werden kann.

14. Dimethylaminobenzoesäureglykuronsäure — $C_{15}H_{19}NO_8$ — (Jaffé). Die Säure wurde nach Verfütterung von Dimethylaminobenzoesäure aus Kaninchenharn von Jaffé[2]) isoliert. Die freie Säure reagiert stark sauer und bildet seidenglänzende Nadeln und dünne Prismen. Schmelzpunkt 205—206°. Sie ist in Wasser und Alkohol selbst bei Siedetemperatur sehr wenig löslich, etwas leichter in Methylalkohol und Aceton; in Chloroform, Äther, Essigäther, Benzol fast unlöslich. In verdünnten Mineralsäuren (namentlich HCl) sowie in verdünnten Alkalien (NH_3) ist sie sehr leicht löslich; aus der salzsauren Lösung wird sie durch essigsaures Natrium unverändert gefällt. Kurzes Erhitzen der Verbindung mit Wasser genügt, um die hydrolytische Spaltung der Säure einzuleiten, die bei mehrstündigem Kochen quantitativ verläuft. — Die Säure ist anscheinend optisch inaktiv; ebenso die Lösung der neutralen Salze. Dagegen zeigt die Lösung in verdünnter Salzsäure Linksdrehung $[\alpha]_D =$ ca. -12^0.

[1]) A. Magnus-Levy, Biochem. Zeitschr. 6. 502. 1907. — Münch. med. Wochenschr. 52. 2168. 1905. — E. Salkowski, Zeitschr. f. phys. Chem. 1. 25. 1877; 4. 135. 1880. — R. Kobert, Schmidts Jahrb. 185. 113. 1880. — K. Siebert, Diss. Königsberg 1901. — Th. Brugsch u. R. Hirsch, Zeitschr. f. experim. Path. und Therap. 3. 663. 1906. — M. Jaffé, Zeitschr. f. phys. Chem. 43. 374. 1905.

[2]) M. Jaffé, Zeitschr. f. phys. Chem. 43. 374. 1905.

Digitized by Google

4. Der Nachweis der gepaarten Glykuronsäuren.

Für die Darstellung und den Nachweis der gepaarten Glykuronsäuren lassen sich wegen der grossen Mannigfaltigkeit der in Betracht kommenden Stoffe keine allgemeinen Vorschriften geben.

Die gepaarten Glykuronsäuren drehen meistens links (Ausnahmen bilden die der Esterklasse angehörigen gepaarten Glykuronsäuren wie Benzoeglykuronsäure und Dimethylaminobenzoeglykuronsäure). Man wird sie also im allgemeinen in stärker linksdrehenden Harnen suchen und kann da die Drehung als Leitfaden für das Verfahren benutzen. Der Grad der Linksdrehung ist jedoch bei den einzelnen Verbindungen beträchtlich verschieden und wechselt beträchtlich je nach Konzentration und sonstigen Lösungsbedingungen.

Harne mit gepaarten Glykuronsäuren reduzieren meist nicht direkt (Ausnahmen: Urochloralsäure, Nitrobenzylglykuronsäure, Benzoeglykuronsäure), sondern erst nach der Hydrolyse durch Erwärmen mit Mineralsäuren, eventuell auch durch Kochen ohne Säure.

In seltenen Fällen krystallisiert die Säure oder deren Salze direkt aus dem Harn aus (Euxanthinsäure, o-Oxychinolinglykuronsäure) oder ist direkt fällbar, z. B. die Chinäthonsäure Kossels (Phenetolglykuronsäure) durch $BaCl_2$ und ätherschwefelsaures Salz, die Thymolglykuronsäure durch $NaCl + HCl$.

In den meisten Fällen sind besondere Verfahren zur Darstellung nötig.

a) Die fraktionierte Bleifällung nach Schmiedeberg und Meyer[1]).

Man kann so verfahren, dass man den Harn entweder direkt oder einen alkoholischen Auszug desselben nach Entfernung des Alkohols erst mit Bleizucker und darauf mit Bleiessig und, wenn nötig, auch mit Bleiessig und Ammoniak fällt. Der Bleiniederschlag, in welchen die linksdrehende Substanz eingegangen ist, wird nach dem Auswaschen mit Schwefelwasserstoff zerlegt und das Filtrat zur Krystallisation verdunstet. Findet sich keine linksdrehende Substanz im Filtrate, so ist die Säure durch andere Lösungsmittel (Alkohol, Äther, Ammoniak) dem Schwefelblei zu entziehen. Schmiedeberg hat bei der Darstellung der Camphoglykuronsäure auch mit gutem Erfolg die Säure durch Behandeln mit überschüssigem Bariumhydrat in der Wärme in das unlösliche basische Barytsalz übergeführt.

Die Naphthoresorcinprobe (s. bei Glykuronsäure) kann zur Kontrolle der mehr oder weniger grossen Vollständigkeit der Fällung benutzt werden.

---

[1]) O. Schmiedeberg u. H. Meyer, Zeitschr. f. phys. Chem. 3. 422. 1879.

Digitized by Google

b) Das Alkohol-Ätherverfahren von Külz[1]).

Man macht den Harn (eventuell nach vorherigem Einengen) mit H_2SO_4 oder H_3PO_4 deutlich sauer und schüttelt mit einem Gemisch von 2 Teil Äther und 1 Teil Alkohol von 96% so lange, als noch optisch aktive Substanz in die Lösung geht. Der Alkohol-Äther-Auszug wird verdunstet, eventuell nach vorheriger Neutralisation. Man versucht nun aus dem (auch Mineralbestandteile, Hippursäure u. a.) enthaltenden Rückstand die Säuren oder ein krystallisierendes Salz zu gewinnen. Als solche Salze kommen in Betracht K, NH_4, Ba, Zn, Cd, Ag. Nach der Empfehlung von Neuberg u. Weiss[2]) sind auch Alkaloide (Cinchonin, Brucin, Morphin, Chinin, Strychnin) vielfach mit Erfolg zur Isolierung gepaarter Glykuronsäuren benutzt worden.

c) In manchen Fällen muss man sich damit begnügen, nach der Hydrolyse den Paarling sowie die freie Glykuronsäure nachzuweisen.

Die gepaarte Glykuronsäure kann durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure oder durch kurzes Erhitzen mit dieser auf eine höhere Temperatur in ihre Bestandteile zerlegt werden. Die Schwefelsäure wird mit Baryumhydrat entfernt. Ist der Paarling in der Schwefelsäure unlöslich, so bleibt er gleich anfangs zurück; löst er sich in der Säure, aber nicht in Wasser, so findet er sich in dem Niederschlag vom schwefelsauren Baryt und ist diesem durch Lösungsmittel zu entziehen. Befindet sich der Paarling neben der Glykuronsäure in Lösung, so lässt sich die Säure durch Kochen mit Wasser in das Glykuron überführen; falls sich beide Bestandteile durch Krystallisation nicht trennen lassen, so kann man versuchen, den Paarling in Äther oder in Alkohol zu lösen; oder man fällt die Glykuronsäure als basisches Barytsalz.

Die Glykuronsäure wird erkannt an ihrem Reduktionsvermögen, ihrer optischen Aktivität, ihrer Gärungsunfähigkeit und ihren sauren Eigenschaften.

5. Die quantitative Bestimmung der gepaarten Glykuronsäuren.

Um Anhaltspunkte über die Menge der Glykuronsäure zu gewinnen, ist vielfach so verfahren worden, dass man die Glykuronsäuren durch Bleifällung ausfällte und dann durch Spaltung die freie Glykuronsäure mit bekanntem, konstantem optischem Drehungsvermögen gewann. Es führt das nur zu unzuverlässigen Schätzungswerten. Brauchbare Werte liefert die Furfurolsalzsäuremethode von C. Tollens.

A. Die Methode von C. Tollens[3]) mit Bleiessigammoniakfällung und Furfuroldestillation.

I. Erforderliche Apparate und Reagentien:

1. Eine ziemlich grosse Nutsche mit Saugflasche und gehärtetem Filtrierpapier.

[1]) E. Külz, Zeitschr. f. Biol. 27. 247. 1890.
[2]) C. Neuberg u. R. Weiss, Ergebnisse der Physiol. 3. I. 443. 1904.
[3]) C. Tollens, Zeitschr. f. phys. Chem. 61. 101. 1909.

Digitized by Google

2. Ein Destillierapparat bestehend aus a) 1 Literkolben aus Jenaer Glas, b) Metallbad mit Roseschem Metall, c) Hahntrichter von 75 ccm mit Marke bei 30 u. 60 ccm, d) Schaumfänger, e) Schlangenkühler, f) graduierter 100 ccm Cylinder. g) Gefäss zum Auffangen des Destillates mit Marke bei 400 und 500 ccm.

3. Porzellangoochtiegel mit Wägegläschen und passender Saugflasche.

4. Bleiessig.

5. Ammoniak.

6. HCl spez. Gew. 1060.

7. Phlorogluc. purissimum Merck.

8. Als Reagens auf Furfurol eine frische Lösung von gleichen Teilen Wasser und Anilin, der so lange konzentrierte Essigsäure zugetropft ist, bis die plötzlich eintretende Klärung erfolgt ist.

9. Langfaseriger Asbest. Zur Herstellung des Filter im Goochtiegel wird der Asbest zunächst in 2—3 mm lange Stücke geschnitten und dann in verdünnter HCl ausgekocht. Hierauf wird so lange mit destilliertem Wasser gespült, bis die saure Reaktion verschwunden ist. Der Asbest wird dann in dünner Schicht in den Tiegel getan und mit dem Tiegel ausgeglüht.

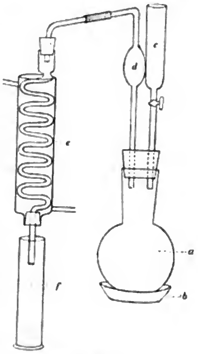


Fig. 49.

II. Prinzip der Methode. Die Glykuronsäure (gepaarte und ungepaarte) wird durch Bleiessig und Ammoniak gefällt. Der ausgewaschene Niederschlag wird nach der B. Tollenschen Furfurolmethode verarbeitet.

III. Ausführung. 250 ccm Harn werden mit 150 ccm Bleiessig und 5 ccm Ammoniak versetzt. Nach mehrstündigem Absitzenlassen wird auf der Nutsche mit doppeltem Filter zunächst die überstehende Flüssigkeit, dann der Niederschlag abgesaugt, indem allmählich stärker gesaugt wird. Dann wird gründlich mit destilliertem Wasser (750 ccm) ausgewaschen. Man saugt das jedesmal aufgegossene Wasser nur so weit ab, bis der Niederschlag eben anfängt Risse zu bekommen. Nur das letzte Waschwasser wird gründlich abgesaugt. Hierauf lässt man den Niederschlag (an einem warmen Orte) trocknen, bis er rissig geworden ist und vom Rande losgesprungen ist. Er lässt sich nun leicht mit dem obersten Filter abheben, zusammenrollen und in den Destillationskolben befördern. Mit dem zweiten Filter wird die Nutsche sauber ausgewischt; dasselbe kommt ebenfalls in den Destillationskolben.

In den Kolben giesst man nun 100 ccm HCl (spezifisches Gewicht 1060) und beginnt energisch zu destillieren. Jedesmal, wenn 30 ccm in die Vorlage übergegangen sind, lässt man von neuem 30 ccm Salzsäure durch den Hahntrichter zulaufen. Man destilliert möglichst schnell und so lange, bis die Furfurolprobe nicht mehr positiv ausfällt. — Die Furfurolprobe wird so angestellt, dass man einen Tropfen des aus dem Kühler fliessenden Destillates auf einen Streifen Filtrierpapier

Digitized by Google

fallen lässt. Daneben bringt man einen Tropfen des Anilinreagens (8), so dass die Ränder der Tropfen einander berühren. Beim Vorhandensein von Furfurol bildet sich ein roter Teilring. — Man muss im allgemeinen 400—500 ccm übergehen lassen, ehe die Reaktion negativ wird. Anfängliches Schäumen lässt sich durch Regulieren der Flamme leicht beherrschen. Die Destillation dauert 50—60 Minuten. — Nach beendigter Destillation löst man etwa doppelt so viel Phloroglucin pur. in erwärmter Salzsäure (1060 D), als man Furfurolphloroglucid erwartet; mit 0,25 g wird man wohl immer auskommen. Die Phloroglucinlösung fügt man unter kräftigem Umschütteln dem Destillat zu und füllt, falls noch weniger als 400 ccm vorhanden sind, genau auf 400 bzw. 500 ccm auf. Zuerst tritt Braunfärbung, dann dichte schwärzliche Trübung auf. Nach mindestens 16 stündigem Stehen filtriert man durch den vorher sehr gründlich im Gasmuffelofen ausgeglühten und dann gewogenen Asbest-Gooch-Tiegel und wäscht aus. (Der geglühte Gooch-Tiegel wird baldmöglichst in das im Trockenschrank bei 98° getrocknete Wagegläschen gebracht und mit diesem zusammen nach völligem Abkühlen gewogen; ein einmal mit Asbest beschickter Tiegel reicht für 5—6 Bestimmungen.) Das Filtrieren und Auswaschen geschieht mit Hilfe einer stark wirkenden Saugpumpe und dauert etwa 10—15 Minuten. Zum Auswaschen werden stets 150 ccm destilliertes Wasser genommen. Man lässt stets nur so viel Wasser abfliessen, dass der Niederschlag eine gut feuchte Oberfläche behält. Durch das Auswaschen muss alle dem Niederschlag anhaftende Salzsäure entfernt werden. — Der Goochtiegel kommt nach dem Auswaschen sofort in einen Trockenschrank von 98—100° und bleibt dort genau 4 Stunden. Dann wird das Wägeglas mit dem Deckel geschlossen, sofort in den Exsiccator gestellt und nach dem Abkühlen gewogen.

Durch Multiplikation des gefundenen Furfurolphloroglucidgewichts mit 3 erhält man das Gewicht des entsprechenden Glykuronsäurelaktons. — Da das Furfurolphloroglucid nicht ganz unlöslich ist, muss der gewogenen Menge, falls Destillat und Waschwasser 550 ccm betrugen, 0,0051—0,0052 g Phloroglucid, falls 650 ccm, 0,0060—0,0061 g als Korrektur hinzuaddiert werden. Andererseits bedarf nach Tollens und Stern[1]) der Phloroglucidwert noch einer weiteren Korrektur, indem für das aus den beiden Filtern stammende Furfurol ein Abzug gemacht werden muss. Zwei Blätter gehärtetes Filtrierpapier von 10 cm Durchmesser lieferten 13 mg Furfurolphloroglucid.

Tollens und Stern nennen die für die Filter anzubringende Korrektur „klein". In normalem Harn sind aber nach den eigenen Angaben von Tollens

[1]) C. Tollens u. F. Stern, Zeitschr. f. phys. Chem. **64**. 40. 1910.

Digitized by Google

und Stern in 250 ccm nur etwa 0.05 g Glykuronsäure enthalten, entsprechend ca. 0.015 g Furfurolphloroglucid, so dass hier die Korrektur annähernd gleich der gefundenen Menge ist.

Die Methode ist nach Tollens sehr genau; von zugesetztem Glykuronsäurelakton wurden 98—99% wiedergefunden. Eine Korrektur für die verwendeten Filter wurde nicht angebracht!! — Es ist jedoch nach Neuberg[1]) damit zu rechnen, dass die Paarlinge der Glykuronsäure unter Umständen störend wirken.

Eine direkte Verwertung des Harns ist nicht angängig, da der Harnstoff stört (C. Tollens). Es muss daher zuerst eine Bleifällung vorgenommen werden.

Die Methode ist handlich und liefert sehr gut untereinander stimmende Werte. Sie eignet sich sicher zu Vergleichen. So lässt sich z. B. die Steigerung der Glykuronsäureausscheidung nach Eingabe von Chloralhydrat oder von Salicylsäure sehr gut quantitativ verfolgen. Ob die absolute Genauigkeit den von Tollens angegebenen Grad erreicht, bedarf noch der weiteren Prüfung (Schultz).

B. Die kolorimetrische Bestimmung mittels der Naphthoresorcinreaktion.

Prinzip: Mit Hilfe der Naphthoresorcinreaktion von B. Tollens (s. dort) hat C. Tollens eine kolorimetrische Methode ausgearbeitet. Es wird unter stets gleichen Bedingungen gearbeitet. Um die störende Eigenfarbe des Harns auszuschalten, wird der Harn, sobald reichlichere Mengen gepaarte Glykuronsäuren vorhanden sind, stark mit Wasser verdünnt.

Verfahren. 5 ccm Harn werden mit 0,5 ccm 1%iger alkoholischer Naphthoresorcinlösung und 5 ccm Salzsäure (1,190 D) in einem Reagenzglas von 13 mm lichter Weite genau 1 Minute gekocht. Man lässt 4 Minuten absetzen, kühlt unter fliessendem Wasser gründlich ab, schüttelt mit 10 ccm Äther, lässt 1 Minute stehen und fügt 0,5 ccm Alkohol hinzu. — Fällt die Reaktion mit dem unverdünnten Harn stark positiv aus, so nimmt man zur nächsten Reaktion 3 ccm Harn und 2 ccm Wasser, dann 2 ccm Harn und 3 ccm Wasser, 1 ccm Harn und 4 ccm Wasser und so fort, bis die Reaktion eben noch positiv ist. Die zuletzt verwandte Harnmenge enthält dann etwa 0,5—1 mg Glykuronsäure.

Nach C. Tollens liefert dieses einfache Verfahren brauchbare Annäherungswerte; Neuberg[2]) hält dasselbedagegen wegen der Fehlerquellen der Naphthoresorcinreaktion (s. dort) für nicht brauchbar.

[1]) C. Neuberg, Der Harn. 1911. 450.
[2]) C. Tollens, Zeitschr. f. phys. Chem. **61**. 109. 1909. — C. Neuberg, Der Harn. 1911. 450.

Digitized by Google

Enzyme.

Von weiland F. Falk und H. Eppinger-Wien.

Im frischen Harn von Menschen und Tieren finden sich Enzyme, die in ihren Eigenschaften denjenigen gleichen, die von den Körperorganen geliefert werden. So wurde die Anwesenheit von Pepsin und von Diastase im normalen Harn sichergestellt; Trypsin scheint in der Regel im Harn zu fehlen und nur unter bestimmten Verhältnissen vorzukommen. Gelegentlich soll die Anwesenheit eines Labfermentes beobachtet worden sein.

Der Übergang von Leukocyten in den Urin bewirkt infolge des Zerfalls der weissen Blutzellen das Auftreten eines proteolytischen Leukocytenfermentes. Ein fett- resp. esterspaltendes Ferment scheint dem normalen Harn zu fehlen.

Neuere Forschungen legen die Anschauung nahe, dass das peptische Ferment schon als Proferment in den Harn gelangt und hier erst aktiviert wird.

In eiweisshaltigem Urin geht mit dem Blutserum ein die tryptische Eiweissverdauung hemmender Körper in den Harn über. Normalerweise scheint dem Harn eine antitryptische Wirksamkeit nur in geringem Grade zuzukommen.

Abelous[1]) berichtet über das Vorkommen eines Wasserstoffsuperoxyd zerlegenden löslichen Fermentes im Urin der Hunde, dessen Wirksamkeit durch Kochen zugrunde geht. Im menschlichen Harn tritt es nicht auf.

Das Erscheinen der Fermente im Ausscheidungsprodukt der Nieren gewinnt in doppelter Beziehung eine Bedeutung. Zunächst gibt es Aufschluss über das Schicksal der Träger dieser wichtigen, fermentativen Vorgänge. Die Anwesenheit im Harn lehrt, dass physiologischerweise ein Teil der Enzyme noch in wirksamer Form aus dem Organismus eliminiert wird; ihre Menge ist relativ klein und steht jedenfalls in keinem Verhältnis zur Gesamtproduktion in den drüsigen Organen. Es hat die Anschauung von Boas sehr viel für sich, dass dieser Fermentanteil die für den Organismus unbrauchbaren und einer anderweitigen Zerstörung entgangenen „Ferment-Schlacken“ vorstelle[2]).

[1]) E. Abelous, Compt. rend. soc. biol. 51. 330—331.
[2]) Boas, Zeit ..r. f. klin. Med. 14. 249. 1888.

Digitized by Google

Sodann ist versucht worden, dem Fermentgehalt des Harns in pathologischen Fällen eine Bedeutung zuzuweisen und denselben als ein Mass anzusehen für die Menge der an Ort und Stelle gebildeten und ins Blut gelangten Fermente resp. Profermente. Es ist experimentell an Tieren erwiesen worden, dass in den Fällen, wo das Blut durch Injektion einer Fermentlösung oder nach Unterbinden eines speziellen Drüsenausführungsganges mit Enzymen überschwemmt worden war, der Harn an den betreffenden Fermenten reicher wurde (Grützner, Fermi u. Pernossi, Ellinger u. Scholz, Fuld u. Hirayama)[1]).

In der menschlichen Pathologie fanden sich ebenfalls Fälle mit von der Norm abweichendem Fermentgehalt des Harns. Über die diesbezüglichen Beobachtungen, namentlich aber über ihre diagnostische Verwertung, lässt sich gegenwärtig noch kein abschliessendes Urteil fällen; die Resultate liegen zu weit auseinander. Es kann vorläufig dem auch mit den neueren Methoden durchgeführten Nachweis sowie der quantitativen Abschätzung der Fermente im Harn eine diagnostische Bedeutung nur in beschränktem Masse zukommen.

1. Harn-Pepsin.

Vorkommen. Pepsin wurde im Harn regelmässig bei Fleischfressern gefunden, beim Menschen in geringer, beim Hund in grösserer Menge, bei Herbivoren scheint es zu fehlen, so bei Kaninchen (Neumeister)[2]). Physiologisch treten in der Pepsinausscheidung im Harn Schwankungen auf. Es wurden solche in dem Fermentgehalt des zu verschiedenen Tageszeiten gelassenen Menschenharns beobachtet. Der Fermentgehalt soll hier im Morgenharn am grössten, im Nachmittagsharn am geringsten sein (Grützner, Gehrig, Sahli u. a.)[3]). Gehrig zeichnete als erster die Kurve dieser Tagesschwankungen. Er fand sie abhängig von dem Sekretionszustand der Fundusdrüsen, resp. von dem Übertritt der pepsinogenen Substanz ins Blut, Sahli von der Rückresorption des fertigen Fermentes in der Darmschleimhaut, Hoffmann[4]) von der Nahrungsaufnahme.

---

[1]) Grützner, Deutsche med. Wochenschr. 1890. S. 10. — Fermi und Pernossi, Zeitschr. f. Hygiene. 18. 105. — Ellinger und Scholz, Deutsches Arch. f. klin. Med. 99. 221. 1910. — Fuld und Hirayma, Berl.. klin. Wochenschrift. 1062. 1910.

[2]) Neumeister. Zeitschr. f. Biol. 24. 289. 1887.

[3]) Grützner, Neue Untersuchungen über die Ausscheidung und Bildung des Pepsins. Breslau 1875; Breslauer ärztl. Zeitschr. 17; 1882. Deutsche med. Wochenschr. 1890. S. 10. — Fr. Gehrig, Pflügers Arch. 38. 1886. — W. Sahli, Ebenda. 36. 209. 1885.

[4]) Hoffmann. Ebenda. 41. 148. 1887.

Digitized by Google

Die Annahme, dass das Magenpepsin in den Darm gelangt, hier resorbiert wird und hierauf im Harn erscheint, kann endgültig abgelehnt werden. Leo[1]) konnte im zweiten Drittel des Dünndarms Pepsin nicht mehr nachweisen. In jüngerer Zeit hat Grober[1]) das Schicksal des peptischen Ferments im Darmkanal verfolgt und gefunden, dass Pepsin durch die alkalische Reaktion des Dünndarminhalts zerstört wird. Loeper und Esmonet[2]) fanden, dass die Wirkung des Pepsins durch Berührung mit der Darmschleimhaut des Duodenums abgeschwächt werde. Dagegen gewinnt die Grützner-Gehrigsche Annahme, dass das Harnpepsin aus dem Proferment stamme, das aus der Magenschleimhaut ins Blut übergegangen war, dadurch eine Stütze, dass die Anwesenheit auch von Propepsin im Harn wahrscheinlich gemacht wurde Fuld und Hirayama, sowie Ellinger und Scholz haben als Beweis dafür die verschiedene Resistenz des Profermentes und des Fermentes im Harn gegenüber Alkalien und gegen höhere Temperaturen angeführt.

Die auf die Pathologie ausgedehnten Untersuchungen haben keine konstanten und übereinstimmenden Resultate gebracht. Bei einzelnen Erkrankungen wurde eine Vermehrung des Harnpepsins gefunden, so bei Diabetes (Leo, Hoffmann), bei Carcinoma ventriculi, Ulcus ventriculi, Phthise, Ileotyphus, Achylia wurde in mehreren Fällen eine Verminderung, selbst vollständiges Fehlen konstatiert (Leo, Hoffmann, Fuld und Hirayama, Takeda). Ellinger und Scholz[3]) fanden, dass sich bei den meisten Karzinomkranken eine gewisse Tendenz zu „übernormalen" Zahlen geltend macht. Bieling[4]) hat neuerdings eine grössere Zahl von klinisch sichergestellten Magencarcinomen in ähnlicher Richtung untersucht und konnte nachweisen, dass die Pepsinausscheidung im Harn in vorgeschrittenen Fällen von Magencarcinom sehr gering ist, oft gleich Null; dagegen ist bei Frühfällen gegenüber anderen Krankheiten kein markanter Unterschied zu bemerken. Zu ähnlichen Resultaten kam mittels des Edestin- und Ricinverfahrens Strauss. Auch beim Pepsin spielt, wie ähnliches für die Diastase festgestellt wurde, der renale Faktor eine grosse Rolle. Strauss ist sogar geneigt, die Ausscheidung der Fermente für die Beurteilung der Nierenfunktion zu empfehlen. Es sind daher Untersuchungen über den Pepsingehalt vorläufig diagnostisch sowohl nach der einen als auch nach der anderen Richtung hin mit Vorsicht zu verwerten (Stadelmann, Benderski, Grober u. a.)[5]). Nach längerem Hungern nimmt der Fermentgehalt im Harn ab. Verfüttern

[1]) H. Leo, Pflügers Arch. **37**. 223. 1885. — Grober, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **83**. 309. 1905.

[2]) Loeper und Esmonet, Compt. rend. soc. biol. **64**. 188. 1908.

[3]) Takeda, Deutsche med. Wochenschr. 1910. Nr. 39.

[4]) Bieling, Arch. f. klin. Med. **102**. 507. 1911. —Strauss, Deutsche med. Wochenschr. 1912. 163.

[5]) E. Stadelmann, Zeitschr. f. Biol. **24**. 226; 1887. ebenda **25**. 208. 1888. — Benderski, Virchows Arch. **121**. 554. 1890. — Grober, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **79**. 442. 1904.

Digitized by Google

von Pepsin hat keinen Einfluss auf die Ausscheidung (Schnappauf, Wilenko)[1]).

Auch subkutan eingeführtes Pepsin vermehrt die Fermentmenge nach Schnappauf nicht. Fermi und Pernossi beobachteten bei Meerschweinchen, deren Harn normalerweise frei von Pepsin ist, nach 2 g unter die Haut eingespritztem Pepsin nur Spuren davon im Harn. Ellinger und Scholz fanden bei Versuchen an Hunden, dass intravenös eingeführtes Pepsin und Propepsin im Harn unverändert ausgeschieden werden kann. Stomachale Einverleibung und subkutane Injektion bewirkten keine Fermentvermehrung im Harn.

Die Quelle des Harnpepsins ist die Magenschleimhaut. Für die Identität beider Fermente spricht die Übereinstimmung in der Temperatur, bei welcher beide zerstört werden (Grober), ferner der Umstand, dass nach Magenexstirpation der Harn kein nach Grützner nachweisbares peptisches Ferment enthält (Frouin und Delezenne, Matthes)[2]). Auch entsprechen die Abbauprodukte der Fibrinverdauung durch das peptische Harnenzym den Spaltprodukten, die man bei Verdauung mit käuflichem Pepsin erhält (Falk und Kolieb)[3]). Das Harnpepsin baut Fibrin nach 24stündiger Verdauung bis zu Deutero-Albumosen und Peptonen ab (Patella, Stadelmann)[3]). Man beobachtet auch regelmässig geringe Mengen abiureten Stickstoffs.

Nachweis und Bestimmung der peptischen Wirksamkeit.

Der Nachweis des Harnpepsins gelingt sowohl direkt im Harn als auch indirekt nach Herausholen des Fermentes aus dem Harn in einer entsprechenden Flüssigkeit. Für den direkten Weg kann der Harn unverdünnt oder verdünnt verwendet werden. Die Verdünnung hat den Zweck, den hemmenden Einfluss der Harnsalze abzuschwächen; der indirekte Weg wird ermöglicht zunächst durch die Eigenschaft der Fermente aus ihrer Lösung von voluminösen Niederschlägen mitgerissen zu werden. Es können in Betracht kommen Calciumphosphat, Uranacetat- oder Alkohol-Niederschläge.

Dann eignen sich nach der Beobachtung von Wittich[4]) lockere Fibrinflocken zum Beladen mit dem Ferment vorzüglich. Nachträgliches Waschen der Flocken mit Wasser schwemmt nichts von dem Ferment weg; waren demnach die Fibrinflocken in der Harnflüssigkeit entsprechend lang gelegen, so können sie mit Wasser abgespült und in

[1]) Schnappauf, Jahresbericht f. Tierchemie. S. 199. 1889. — Wilenko, Berl. klin. Wochenschr. S. 1060. 1908.

[2]) Frouin und Delezenne, Compt. rend. soc. Biol. **56**. 204. 1904. — Matthes, Arch. f. experiment. Pathol. u. Pharm. **49**. 1903.

[3]) Patella, Virchow-Hirsch Jahresber. S. 257. 1887. — Falk und Kolieb, Zeitschr. f. klin. Med. **68**. 1909.

[4]) v. Wittich, Pflügers Arch. **5**. **443**. 1872.

Digitized by Google

der entsprechenden Verdauungsflüssigkeit auf ihre Wirksamkeit geprüft werden. Wie ersichtlich, hat der indirekte Weg den Vorteil, den Einfluss der Harnsalze auszuschalten, sowie in klaren, farblosen Flüssigkeiten zu beobachten. Bei Verwendung von Fibrin empfiehlt es sich, das frisch gewonnene Rinderfibrin vorher zu kochen. Es haften dem Fibrin vom Blute her proteolytische Fermente an, die demselben durch Waschen mit Wasser oder Aufbewahren in Glycerin nicht entzogen werden (Stadelmann, Falk und Kolieb). Ausserdem wird es notwendig sein, bakterielle Nebenwirkungen durch Toluolzusatz zu verhindern.

Zum Nachweis der peptischen Wirksamkeit des Harns wurden neben dem Fibrin auch andere Eiweissarten herangezogen, z. B. Kasein, Edestin. Wilenko u. a. verwendeten in Anlehnung an das für das Magenpepsin von Jacoby[1]) angegebene Verfahren die Eiweissubstanzen, die dem käuflichen Ricinpräparat beigemengt sind, und in Kochsalzlösung aufgenommen, eine trübe Flüssigkeit geben. An dem Grad der Aufhellung liess sich die peptische Wirksamkeit verfolgen.

Da nur der frische Harn eine Enzymwirkung entfaltet, der gekochte aber nicht, so können zur Kontrolle die einzelnen Proben in adäquater Weise mit gekochtem Harn wiederholt werden.

Es sind im folgenden nur jene Methoden des Pepsinnachweises sowie der Pepsinbestimmung aufgenommen worden, die speziell im Harn angewendet wurden und gute Dienste geleistet haben.

A. Das Fibrinflocken-Verfahren.

Dieses Verfahren ist weitaus am meisten angewendet worden und darauf stützte sich der grösste Teil von Erfahrungen, die mit dem Harnpepsin gemacht worden sind.

Zum Nachweis mit Hilfe von Fibrinflocken wird in eine Harnmenge von ca. 30 ccm eine kleine Flocke von gekochtem Fibrin eingelegt, etwas Toluol zugesetzt und das Ganze ungefähr 3 Stunden im Eisschrank belassen. Hierauf wird der Harn entfernt, die Fibrinflocke mit Wasser gut ausgewaschen und in ca. 20 ccm einer 0,2%igen Salzsäurelösung übertragen. Nach 16—24 Stunden des Verweilens im Brutschrank bei 37—40^0 ist die Flocke vollständig oder zum grossen Teil verdaut, die Flüssigkeit ist mehr oder weniger trüb, opalisierend und gibt schön rotviolette Biuretreaktion. In dem Kontrollversuch mit gekochtem Harn ist die Flocke bloss gequollen, die darüber stehende Flüssigkeit klar, die Biuretreaktion negativ.

[1]) M. Jacoby, Biochem. Zeitschr. 1. 53. 1906.

Digitized by Google

Die Möglichkeit, das Fibrinflockenverfahren zu quantitativen Untersuchungen zu verwerten, schien gesichert durch den Befund, dass das Pepsin quantitativ oder doch proportional zu den vorhandenen Pepsinmengen aus dem Harn aufgenommen werden konnte. Wurde unter sonst gleichen Bedingungen gearbeitet und wurde der Verdauungsversuch in den verschiedenen Proben nach der gleichen Zeit der Einwirkung unterbrochen, so bot der Fortschritt in der Fibrinverdauung ein Vergleichsmass für die vorhandene Pepsinmenge. Es folgt die peptische Verdauung bekanntlich der Regel, wonach die Verdauungsgeschwindigkeit in einem einfachen Verhältnis zu der Fermentmenge steht. Die verdauende Kraft des Harns konnte, gleiche in Verwendung kommende Fibrinmengen vorausgesetzt, sichtbar verglichen werden an dem Grad der Fibrinverflüssigung oder an der Intensität der Biuretreaktion in der Lösung.

Grützner hat einen kolorimetrischen Weg vorgeschlagen; statt des gewöhnlichen Fibrins verwendete er ein Carminfibrin (von Grübler), dessen Farbstoff in demselben Masse frei werden und die Flüssigkeit färben soll, als Fibrin zur Auflösung kommt. Aus der Stärke der Rotfärbung konnte auf den Fermentgehalt geschlossen werden. Für Harne, die ja eine niedrige Pepsinkonzentration haben, ist diese Methode nicht zu empfehlen, da man innerhalb der Zeit, die zur Auflösung des Fibrins durch das Harnpepsin notwendig ist, ein Auslaugen des Farbstoffes auch in den Kontrollröhrchen wahrnimmt.

Dem im übrigen so einfachen Fibrinflockenverfahren haften Fehlerquellen an, die unter Umständen zu empfindlichen Täuschungen über den Pepsingehalt führen können, so dass es für quantitative Arbeiten nicht empfohlen werden kann. Wie Falk und Kolieb zeigten, spielt die Harnreaktion bei Anwendung dieser Methode eine nicht zu vernachlässigende Rolle. Näherte sich dieselbe der alkalischen Reaktion, so konnte dieses Verfahren sogar vollständig im Stiche lassen. Ein nativer Harn durch Zusatz einiger Tropfen Salzsäure auf eine höhere Acidität gebracht, liess einen höheren Pepsingehalt erkennen, als der unveränderte Harn. Für jeden Harn liess sich ein Aciditätsoptimum feststellen, bei dem unter sonst gleichen Verhältnissen der grösste Fermentgehalt beobachtet wurde. Diese Erscheinung spricht dafür, dass durch die Säurewirkung ein Proferment event. aktiviert wird.

In neuerer Zeit hat man sich anderen Verfahren zugewendet, die scheinbar in quantitativen Fragen verlässlichere Resultate geben. Davon sind zu nennen:

Digitized by Google

B. Das Casein-Verfahren.

Diese von O. Gross[1]) im Anschluss an Fulds Edestinverfahren für das Magenpepsin ausgearbeitete Methode wurde zunächst von Brodzki[2]) in folgender Weise für die Verhältnisse im Harn modifiziert. Zu 25 ccm saurem Harn, der mit 20 ccm Wasser verdünnt worden war, wurde genau gewogen 1 g Kasein und etwas Toluol zugesetzt, nach 24 stündiger Einwirkung im Brutschrank wurde neutralisiert, bis 70° erwärmt und das unveränderte Kasein mit 1 ccm Eisessig gefällt. Von dem klaren Filtrat wurde in einem aliquoten Teil der Stickstoff bestimmt. Die gleiche Portion gekochten Harns wurde ebenso behandelt und aus der Differenz der Stickstoffwerte in den beiden Portionen wurde die Stickstoffmenge berechnet, die den Abbauprodukten des Kaseins entsprach.

Einfacher und zweckmässiger gestaltet sich dieses Verfahren nach der von Ellinger und Scholz[3]) angewendeten Modifikation, die sich an die Grosssche Vorschrift anlehnt.

Es kamen zwei Reagentien zur Verwendung: 1. Eine Lösung von 1 g Kasein in 1000 ccm Wasser, das 16 ccm 25 %iger Salzsäure enthielt. Diese wird am besten hergestellt, indem das Kasein in einer Reibschale mit der Salzsäure verrieben und nach Zusatz des Wassers 1 Stunde lang im Wasserbad gekocht wird. 2. Eine gesättigte Natriumacetatlösung. 6 Röhren wurden mit je 10 ccm der Lösung 1 gefüllt und mit fallenden Mengen Harns (2, 1, 0,5, 0,1 ccm) beschickt. Mit gekochtem Harn wurde auf 12 ccm überall aufgefüllt, die Röhrchen wurden $1^1/_4$—$1^1/_2$ Stunden bei 40° gehalten. Die Prüfung auf stattgehabte Verdauung geschah durch Zusatz von je $^1/_2$ ccm der Lösung 2, durch die nur das unverdaute Kasein, nicht die Verdauungsprodukte gefällt wurden.

C. Ricin-Verfahren.

Eine andere Versuchsanordnung hat Wilenko[4]) auf Grund der Jacoby-Solmsschen Ricinmethode in Anwendung gebracht. Die 24 stündige Harnmenge wurde gesammelt, ein Teil des Harns mit starker Salzsäure tropfenweise versetzt, bis Kongopapier Blaufärbung anzeigte. Der Harn wurde filtriert und davon steigende Mengen (0,2, 0,5, 1,0, 2,0 ccm) zu einer Mischung von 0,5 ccm einer Ricinlösung plus 0,3 bis 0,5 ccm einer Zehntelnormal-Salzsäurelösung hinzugefügt. Zur Her-

[1]) Gross, Berl. klin. Wochenschr. **13**. 643. 1908.
[2]) Brodzki, Zeitschr. f. klin. Med. **63**. 537. 1907.
[3]) Ellinger u. Scholz, l. c.
[4]) Wilenko l. c.; Berl. klin. Wochenschr. 1908. S. 1060.

Digitized by Google

stellung der Ricinlösung wurde 1 g Ricin auf 100 ccm $^1/_2$%iger NaCl verwendet und filtriert. Die Röhrchen werden mit gekochtem Harn auf gleiches Vol. aufgefüllt. Die einzelnen Röhrchen zeigten nach einigem Stehen bei Zimmertemperatur oder nach 6 stündigem Verweilen im Brutschrank (37°) teils mehr, teils weniger starke Aufhellung gegenüber der getrübten Kontrollprobe. Die Beurteilung macht infolge der wenig scharfen Aufhellungsübergänge Schwierigkeiten und erfordert Übung. Der Pepsingehalt wird durch die Mengenangabe der im Harn vorhandenen Pepsineinheiten ausgedrückt. Die Rechnung erfolgt in der Weise, dass die gesamte Harnmenge durch die Harnmenge derjenigen Probe dividiert wird, bei der die Ricintrübung bis auf Spuren aufgehellt ist. Die Zahl, die sich ergibt, bestimmt die Menge an Pepsineinheiten.

Beispiel:

Urinmenge 1250 cm³, spez. Gew. = 1,018, eiweissfrei

Röhrchen:	1	2	3	4	5
Harn:	0,0	0,2	0,5	1,0	2,0
gek. Harn:	1,0	0,8	0,5	0,0	0,0
	0,5 Ricinl. + 0,3 $^1/_{10}$ HCl				0,5 Ricinl. + 0,5 $^1/_{10}$ HCl
nach 6 Std.	trüb	trüb	heller	hell	hell

Rechnung: 1250 : 0,5 = 2500 Pepsineinheiten.

Ellinger und Scholz verwendeten das Ricinverfahren in folgender Form:

1 g des Ricinpräparates wurde in 100 ccm 5 % iger Kochsalzlösung aufgelöst und filtriert; 5 Reagenzröhrchen wurden mit je 2 ccm der klaren Lösung beschickt und zu jedem Röhrchen $^1/_2$ ccm einer Zehntel-Normal-Salzsäure hinzugefügt, worauf eine dichte Trübung entstand. Dann wurden fallende Mengen des unverdünnten Harns zugesetzt. Mit gekochtem Harn wurden sämtliche Proben auf das gesamte Volumen von $4^1/_2$ ccm ergänzt. Die Reaktion jeder Probe war salzsauer. Nach 18—24 stündigem Aufenthalt bei 37° wurden die Resultate aufgenommen. Auch Bieling bediente sich dieser Methode.

D. Edestin-Verfahren.

Schliesslich wurde auch die Fuldsche Edestin-Probe auf den Harn angewendet.

Fuld und Hirayama[1]) gingen dabei in folgender Weise vor. Es wurden von dem gesamten Tagesharn 9 ccm genommen, diese mit 1 ccm Normal-Salzsäure angesäuert; davon wurden fallende Mengen in kleine Reagenzröhrchen gebracht und ausserdem noch 2 ccm einer 1 ‰ igen Edestinlösung. Diese wurde so hergestellt, dass 1 Teil

[1]) E. Fuld und K. Hirayama, Berl. klin. Wochenschr. 1910. S. 1062 sowie Kunimatsu Takeda, Deutsche med. Wochenschr. 1910. S. 1807.

Digitized by Google

Edestinpulver in 1000 Teilen Salzsäure von der Acidität 30 aufgelöst, aufgekocht und unter Toluol aufbewahrt wurde. Die Röhrchen wurden bei 40° 1 Stunde lang im Wasserbad stehen gelassen. Der Verdauungsprozess wurde überall gleichzeitig durch plötzliches Abkühlen unterbrochen und in jedes Gläschen 6—9 Tropfen einer konzentrierten Kochsalzlösung zugesetzt. War peptisches Ferment hinlänglich vorhanden, so konnte keine Trübung beobachtet werden, fehlte jedoch Pepsin im Harn, so war dies durch starke Trübung der Flüssigkeit zu erkennen.

2. Harn-Trypsin und Antitrypsin.

Vorkommen. Die Frage nach dem Vorhandensein eines tryptischen Enzyms im normalen Harn Erwachsener hat widersprechende Antworten erfahren. Die meisten Autoren haben dieses Ferment im Harn vermisst (Kühne, L. Mees, Leo, Stadelmann, Patella, Rosenberg, Hopkins u. a.)[1]. Auch in neuerer Zeit haben die zum Teil mit empfindlichen Methoden durchgeführten Untersuchungen ein negatives Resultat gehabt (Fermi und Pernossi, Falk und Kolieb, Bamberg, Döblin)[2].

Im Menschen-, Hund- und Kaninchen- sowie im Säuglingsharn wurde öfters, nicht regelmässig, ein Kasein bei alkalischer Reaktion verdauendes Ferment gefunden (Brodzki, Benfey)[3].

In pathologischen Fällen konnte Trypsin im Harn zuweilen nachgewiesen werden. Hopkins fand es unter vier untersuchten perniziösen Anämien zweimal.

Nach Unterbindung des Ductus pancreaticus erschien es im Kaninchen-, nicht im Hunde- und Katzenharn (Hoffmann, Rosenberg). Hunde, denen von einer Trypsinlösung reichlich subkutan injiziert wurde, schieden geringe Mengen davon im Harn aus (Fermi und Pernossi, Bamberg). Nach Implantation der Pankreasdrüse in die Bauchhöhle erschien im Harn kein Trypsin (Bamberg).

Es fehlte nicht an Versuchen, eine Erklärung für das Fehlen der tryptischen Wirksamkeit im normalen Harn zu geben. Es wurde die Empfindlichkeit des Fermentes gegenüber einer sauren Harnlösung bei gleichzeitig anwesendem Pepsin dafür verantwortlich gemacht (Stadelmann, Hoffmann). Es konnte jedoch auch in dem, infolge Alkaligenusses alkalisch gelassenen Harn Trypsin nicht nachgewiesen werden (Falk und Kolieb). Ebensowenig fand Bamberg ein kaseinverdauendes tryptisches Ferment im normalen Harn, obzwar dieses in einem künstlichen Pepsinharngemisch mit saurer Reaktion sich in seiner Wirksamkeit erhalten zeigte.

---

[1]) Kühne, Verhandlg. d. naturhistor. med. Vereins in Heidelberg. **2.** 5. 1877. — L. Mees, Jahresber. f. Tierchemie. S. 269. 1885. — Rosenberg, Zentralbl. f. Physiol. **4.** 587. 1890. — Hopkins, Guys Hosp. Reports. **50.** 371. 1894.

[2]) Fermi und Pernossi, Zeitschr. f. Hygiene. 18. 105. — Bamberg, Zeitschr. f. experiment. Path. u. Ther. **5.** 1908. — A. Döblin, Deutsche med. Wochenschr. Nr. 25. 1909. —

[3]) Benfey, Biochem. Zeitschr. **10.** 458. 1908.

Digitized by Google

Es scheint demnach der Schluss gerechtfertigt, dass das tryptische Ferment des Organismus normalerweise die Nieren nicht in nachweisbaren Mengen passiert oder zumindest nicht in wirksamer Form.

In jüngerer Zeit wurde nachgewiesen, dass unter Umständen eine, die tryptische Verdauung hemmende Substanz in den Harn übergehen kann. Im normalen Harn fehlte Antitrypsin (Müller und Kolaczek, Bauer und Reich)[1]). Auftreten eines solchen Harnantitrypsins scheint an die Durchlässigkeit der Nieren für Serumeiweiss gebunden zu sein. Für das normale Blutserum aber ist der Gehalt an Antitrypsin sichergestellt. Demgemäss fanden Bauer und Reich, Döblin[2]) den grössten Gehalt an antitryptischer Substanz im Harn bei akuter und subakuter Nephritis, bei Tuberkulose und Amyloidose der Nieren und bei Infektionserkrankungen.

Hirata[3]) erzeugte bei Kaninchen Uran-, Chromsäure-, Sublimatnephritis und fand den Antitrypsingehalt des Urins gegenüber der Norm erheblich erhöht. Auch im Blut war er deutlich gesteigert. Die Steigerung soll bei den verschiedenen toxischen Formen der Nephritis im Blut und im Harn nicht zur gleichen Zeit auftreten. So fand Hirata beim uranvergifteten Tier die Vermehrung des Antitrypsingehalts zuerst im Harn, dann im Blut, bei der Chromsäurevergiftung zuerst im Blut, später im Urin; bei Sublimatnephritis trat sie im Blut und im Harn gleichzeitig auf.

Dem diabetischen Harn fehlt die antitryptische Eigenschaft (Marcus)[4]). Nach Bamberg genügt die antitryptische Kraft des Serums für gewöhnlich zur Neutralisierung selbst grösserer Mengen in die Blutbahn gelangten Trypsins, weshalb keine oder unwesentliche Mengen eines wirksamen Trypsins durch den Harn eliminiert werden. Dagegen hemmt nach Döblin auch der normale dialysierte Harn in den meisten Fällen in geringem Grade die Trypsinverdauung. Die antitryptische Kraft des Urins ist nach ihm ca. 1000 mal schwächer als die des Serums. Sie ist in hohem Masse resistent gegen Erhitzen, durch Ätherextraktion wird sie aus dem Harn nicht entfernt. Die Hemmungskraft des eiweisshaltigen Harns schwächt sich mit zunehmendem Eitergehalt desselben ab.

Nachweis und Bestimmung der tryptischen und antitryptischen Wirksamkeit.

Für den Nachweis des Urotrypsins wurde die Fibrinflockenmethode in gleicher Weise angewendet wie für den Nachweis des Pepsins (s. d.) nur mit dem Unterschied, dass die aus dem Harn genommenen Flocken nicht in 0,2 % ige Salzsäure, sondern in 0,2 % ige Sodalösung

[1]) Müller und Kolaczek, Münch. med. Wochenschr. 1907. Nr. 8. — J. Bauer und Z. Reich, Med. Klinik. 1909. S. 1744.

[2]) Döblin, Zeitschr. f. Immunitätsforschung. 4. 224. 1909.

[3]) G. Hirata, Biochem. Zeitschr. 27. 397. 1910.

[4]) Marcus, Zeitschr. f. experiment. Path. u. Therap. 6. Heft 3.

Digitized by Google

gebracht wurden. Ein bei alkalischer Reaktion fibrinauflösendes Harnenzym fehlt jedoch normalerweise. Auch mit Hilfe anderer, der tryptischen Verdauung im allgemeinen zugänglicher Substanzen gelang der Nachweis im normalen Harn nicht. Versucht wurde derselbe mit Thymolgelatine oder Blutserumplatten (Falk und Kolieb), mit Seidenpepton (E. v. Leyden und Bergell)[1]), mit Witteschem Pepton (v. Bergmann)[2]).

Brodzki wies im frischen Menschen-, Hunde- und Kaninchenharn ein Ferment nach, das bei alkalischer Reaktion Fibrin unverändert liess, dagegen Kasein abbaute. Der Vorgang dabei entsprach dem für den Nachweis des Uropepsins. 25 ccm des durchgemischten Harns (Tagesmenge) wurden mit 200 ccm destilliertem Wasser verdünnt und 1 g Kasein zugesetzt, ausserdem kamen noch 2 ccm halbnormaler Natronlauge oder 2 ccm 1 %iger Sodalösung und 1 ccm Toluol dazu. Diese Mischung wurde 24 Stunden im Brutschrank bei 37° stehen gelassen, hierauf neutralisiert, bis 70° erwärmt und das unveränderte Kasein mit 1 ccm Eisessig gefällt und filtriert. Damit das Kasein klumpig ausfalle, wurde nachträglich nochmals aufgekocht; trotzdem war die filtrierte Flüssigkeit nicht ganz klar. In einem aliquoten Teil derselben wurde nach Kjeldahl der Stickstoff bestimmt. Zur Kontrolle wurde 25 ccm Harn zum Kochen erhitzt und die abgedampfte Wassermenge (ca. 1 ccm) ersetzt. Die weitere Behandlung war konform der ungekochten Versuchsprobe. Der Stickstoffüberschuss wurde auf Rechnung der Kaseinabbauprodukte gesetzt. Brodzki berechnete nach dieser Versuchsanordnung die Gesamtmenge des unter normalen Verhältnissen in der Tagesmenge ausgeschiedenen urotryptischen Fermentes als gleich gross mit einer Fermentmenge, die 8,4 g Kasein (Menschenharn), resp. 5,4 g Kasein (Hundeharn) binnen 24 Stunden in nicht mehr mit Essigsäure ausfällbare Abbauprodukte überführt.

Bamberg konnte mit dieser etwas modifizierten Methode ein urotryptisches Ferment nicht nachweisen.

Für den Antitrypsin-Nachweis und als Mass für dessen Gehalt im Harn wurde entweder so verfahren, dass eine konstante Menge des antitryptischen Harns zu einer Kasein-Trypsin-Mischung von steigenden Mengen Trypsin zugesetzt wurde (Bauer und Reich) oder es wurden fallende Mengen Urin mit einer ausgewerteten Kasein-Trypsin-Kombination zusammengebracht.

Hirata verfuhr dabei in folgender Weise: Von einer 1 %igen Stammlösung von Trypsin wurde diejenige Menge ausgewertet, die noch

[1]) E. v. Leyden und Bergell, Zeitschr. f. klin. Med. **61**. 364. 1907.
[2]) v. Bergmann, zit v. Brodzki, Zeitschr. f. klin. Med. **63**. 537. 1907.

Digitized by Google

imstande war, 2 ccm einer $1^0/_{00}$ Kaseinlösung innerhalb $^1/_2$ Stunde im Wasserbade von 38° glatt zu verdauen. Zu diesem Quantum wurden in einer Reihe von Röhrchen fallende Mengen von Urin, der vorher genau neutralisiert war, zugesetzt. Die Volumina wurden mit physiologischer Kochsalzlösung ausgeglichen, die Röhrchen $^1/_2$ Stunde bei Zimmertemperatur stehen gelassen, dann erst mit je 2 ccm der Kaseinlösung beschickt und in ein Wasserbad von 38° für 30 Minuten gegeben. Die weitere Behandlung erfolgte in der üblichen Weise. Die Röhrchen wurden gleichzeitig abgekühlt und dann mit $^1/_2$ ccm einer gesättigten Natriumacetatlösung versetzt. Das Röhrchen, an dem die Trypsinwirkung vollständig gehemmt war, gab den mächtigsten Niederschlag. Hirata bezeichnete als Antitrypsineinheit diejenige Menge, welche die vorliegende Trypsinwirkung vollständig hemmte. Das Mass für die gesamte antitryptische Kraft des Harns war gegeben durch Angabe der Gesamtmengen-Einheiten, die in dem Harn vorhanden waren.

Döblin verwendete eine 1%ige Lösung von Pankreatin in Glycerinwasser als verdauende Testlösung. Der Harn wurde vor der Untersuchung dialysiert und neutralisiert.

Bei Überprüfung der verschiedenen Methoden kam Schippers[1]) zu der Überzeugung, dass andere Harnbestandteile die antitryptische Wirkung stark beeinflussen. So wirkt der Eiweissgehalt stark hemmend, während die Anwesenheit von Kochsalz, wenn gross genug, die Trypsinwirkung fördert. In dem Sinne muss die antitryptische Wirkung pathologischer Harne stets berücksichtigt werden. Eine klinische Bedeutung scheint sich vorläufig nicht ableiten zu lassen.

3. Harn-Diastase.

Vorkommen. Neben dem peptischen ist das diastatische Ferment ein regelmässiger und unbestrittener Bestandteil des normalen Urins. Im Harn des Menschen findet es sich reichlicher als in dem des Kaninchens und hier wieder reichlicher als im Hundeharn. Der Hund eignet sich daher zu Fermentuntersuchungen nach dieser Richtung schlecht; sein Harn enthält nur Spuren Diastase. Das männliche Geschlecht (Mensch) scheidet nach Wohlgemuth[2]) im Durchschnitt etwas mehr Diastase aus als das weibliche. Im Laufe eines Tages treten periodische Schwankungen im Diastasegehalt des Harns auf. Diese Schwankungen sind nicht von der Harnacidität, wohl aber von der Nahrungsaufnahme abhängig. Nach der Hauptmahlzeit ist der Gehalt am grössten, vor derselben am kleinsten (Holovtschiner[3]), Rosen-

[1]) Schippers, Archiv f. klin. Med. **101.** 543. 1910.
[2]) J. Wohlgemuth, Zeitschr. f. Bioch. **21.** 432. 1909.
[3]) Holovtschiner, Virchows Arch. **104.** 42. 1886.

Digitized by Google

berg, Falk und Kolieb), im Hungerzustand sehr gering (Gehring, Hoffmann). Dagegen fand Zuntz[1]) im Harn eines Hungerkünstlers nach längerer Hungerperiode ziemlich viel Diastase. Wohlgemuth fand im nüchternen Zustand die höchste Diastasekonzentration.

Nach grossen Glyceringaben trat das saccharifizierende Ferment im Kaninchenharn in erheblichen Mengen auf (Herrmann[2])), ebenso nach Einverleibung grösserer Mengen Stärke (Vigay)[3]). Nach Unterbindung der Parotidenausführungsgänge wurde es nur vom Hund und von der Katze reichlicher ausgeschieden (Rosenberg). Nach Mensurverletzung mit Speichelinfiltration beobachtete Grützner grössere Fermentmengen im Harn. Untersuchungen im Bereich der menschlichen Pathologie haben im allgemeinen wenig übereinstimmende Resultate gebracht. Leo, Bendersky[4]) beobachteten eine Diastasevermehrung bei Diabetes melitus, letzterer hin und wieder auch bei Diabetes insipidus. Dagegen fanden Lépine, Loeper und Ficai[5]), Clark[6]), Wohlgemuth bei Zuckerkranken auffallend wenig Diastase im Urin, ebenso Wohlgemuth[7]) Wynhausen[8]) und G. Hirati[9]) bei Nephritis. Dagegen stellte Lüttge aus einem eiweisshaltigen Nephritikerharn ein stark wirksames Diastase-Präparat her. Nach Unterbindung des Ductus Wirsungianus sowie nach Abschnüren einer kleinen Partie des Pankreas erfolgte ein Ansteigen der Diastase im Blut und im Harn. Auch bei Menschen mit Symptomen des totalen resp. partiellen Verschlusses des Ductus pankreaticus traten zuweilen sehr hohe Werte im Harn auf. Wohlgemuth machte die gleiche Beobachtung bei Verschluss des Gallenausführungsganges, aber erst nach Ablauf einer bestimmten Zeit.

Loeper und Ficai fanden dagegen nach Unterbindung des Ductus Wirsungianus eine erhebliche Abnahme der Urindiastase, eine Zunahme bei Obstipation und Darmverschluss.

Entscheidenden diagnostischen Wert kann das diastatische Enzym im Harn vorläufig nicht beanspruchen. Wohlgemuth[10]) zog die Diastasebestimmung zur Nierenfunktionsprüfung heran. Bei getrennt aufgefangenen Harnen wurde in der der kranken Niere entsprechenden Portion immer weniger Diastase gefunden. Das Ferment lässt sich nach Breusing[11]) durch Alkohol aus dem Harn fällen. Durch Fibrinflocken sowie durch feine Schwämmchen lässt es sich dem Harn entziehen (Bendersky).

In einer neueren Arbeit kommt Wynhausen[12]) auf den Gehalt an Diastase und seine prognostische Bedeutung bei Diabetikern zurück. Hohe Diastasewerte (50 Wohlgemuth-Einheiten) sprechen für leichte Formen von Diabetes, während bei schweren Fällen — eine Ausnahme bilden bloss Diabetiker, die mit Nephritis kompliziert sind — sich sehr geringe Werte (20 Einheiten) finden. Zu einer ähn-

---

[1]) Zit. nach Grützner, l. c.
[2]) Herrmann, Prag. med. Wochenschr. 1892. Nr. 48.
[3]) Vigay, Compt. rend. soc. biol. **64**. 793. 1908.
[4]) Bendersky, Virchows Arch. **121**. 554. 1890.
[5]) Loeper u. Ficai, Arch. de méd. expér. et d'anatom. patholog. **19**. 722. 1907.
[6]) Clark, Glasgow medical. Journ. Juni. 1905.
[7]) Wohlgemuth, Berl. klin. Wochenschr. Nr. 31. 1910.
[8]) Wynhausen, Berl. klin. Wochenschr. Nr. 9. 1910.
[9]) G. Hirata, Biochem. Ztschr. **28**. 23. 1910.
[10]) Wohlgemuth, Berl. klin. Wochenschr. **44**. 1444.
[11]) Breusing, Virchows Arch. **107**. 186. 1887.
[12]) Wynhausen, Berl. klin. Wochenschr. 1910. Nr. 46. 1207.

Digitized by Google

lichen Anschauung kommt Marino[1]): Diastase ist bei Diabetes und Nephritis verringert, ebenso bei perniziösen und sekundären Anämien. Dagegen zeigt sich bei Pankreaserkrankungen eine starke Vermehrung, die sogar differentialdiagnostische Bedeutung haben kann. Dafür spricht auch ein Fall von Benczur[2]), der einen Verschluss des Ductus pancreaticus betraf.

Auch bei experimenteller Nephritis geht der Diastasegehalt des Urines herunter (Goichi Hirata)[3]). In dem Masse, als die Werte im Harn abnehmen, ist ein gleichzeitiges Ansteigen im Blute zu bemerken. Ein solcher Antagonismus gilt bezüglich des Antitrypsins nicht.

Nachweis und Bestimmung der diastatischen Wirksamkeit.

Der Nachweis wird am besten direkt im Harn vorgenommen und wird mit Hilfe der Stärke abbauenden Eigenschaft der Diastase geführt. Die Einwirkung des Harnfermentes auf die Stärke lässt sich an dem Verschwinden der Jodreaktion sowie an dem Auftreten reduzierender Substanzen verfolgen. Zu 20 ccm Harn wird 1 ccm eines 2 %igen frischen Reisstärkekleisters und etwas Toluol zugesetzt. Die Proben werden 6—12 Stunden bei 40° gehalten. Tritt auf Zusatz eines Tropfens einer Jodlösung keine Blaufärbung auf, so ist alle Stärke verschwunden; mit Hilfe der Fehlingschen Lösung ist meist das Auftreten reduzierender Abbauprodukte nachzuweisen. Die Kontrolle wird an dem gekochten Harn vorgenommen.

Die blaue Farbe als Ausdruck der Jod-Stärkereaktion verschwindet relativ rasch. Wenn man in geeigneten Zeitabschnitten untersucht, findet man entsprechend der fortschreitenden Amylolyse das Auftreten eines violetten, roten und gelbbraunen Farbentones. Die gebildeten Abbauprodukte sind Dextrine und Maltose. Weiter geht die fermentative Spaltung im Harn nicht.

Da die Spaltungsgeschwindigkeit mit steigenden Fermentmengen zunimmt, so lässt sich aus der zu einer bestimmten Zeit des Versuches gebildeten Quantität reduzierender Spaltungsprodukte vergleichsweise auf den Fermentgehalt des Harns schliessen. Die Bestimmung der gebildeten reduzierenden Substanzen kann analog der für den Harn angegebenen Methoden ausgeführt werden.

Der Nachweis von Diastase im Harn kann auch mit Hilfe von Stärkekleisterplatten geführt werden. Zu ihrer Herstellung empfiehlt Müller[4]) Stärke mit Wasser (etwa 10 %) anzurühren und dieselbe bei ca. 55° ein bis zwei Tage lang ordentlich quellen zu lassen. Dann

[1]) Marino, Arch. f. klin. Med. **103**. 306. 1910.

[2]) Benczur, Wien. klin. Wochenschr. 1910. 890.

[3]) Giochi Hirata, Diastase im Blut und Harn. Biochem. Zeitschr. **28**. 23 und **27**. 397. 1910.

[4]) E. Müller, Verhandl. d. 25. Kongr. f. inn. Med. 1908. S. 680.

Digitized by Google

füllt man Petrischalen mit der fleissig umgerührten, weisslich milchigen Mischung. Die geschlossenen Petrischalen kommen darauf in einen auf 85—90° eingestellten Trockenschrank. Nach ein bis zwei Stunden werden die genügend festen Stärkekleisterplatten herausgenommen, das angesammelte Wasser abgegossen. Auf die abgekühlte Platte wird mit Hilfe einer Platinöse ein Tropfen Harn aufgetragen. Bei Anwesenheit eines diastatischen Fermentes beobachtet man nach geraumer Zeit der Einwirkung eine Dellenbildung infolge der Verflüssigung des Stärkekleisters. Wird nachträglich die Platte mit Lugolscher Jodlösung übergossen, so bleibt die Blaufärbung an dieser Stelle aus. An der Grösse der Dellenbildung hat man ebenfalls ein ungefähres Mass für die Fermentkonzentration.

Exaktere Werte für die Fermentmenge eines Harns erhält man, wenn man die diastatische Kraft nicht an der Menge der Abbauprodukte, sondern an der kleinsten Diastasemenge bestimmt, die noch imstande ist, eine bekannte Quantität Stärke innerhalb einer bestimmten Zeit zu Dextrinen abzubauen.

Nach Wohlgemuth werden eine Reihe von Reagenzgläsern mit fallenden Mengen des Harns beschickt, dazu 5 ccm einer 1%igen Stärkelösung und etwas Toluol zugesetzt und die Röhrchen auf 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Es kann auch eine 1 ‰ige Stärkelösung verwendet werden, worauf die Digestion nur $^1/_2$ Stunde erfolgt. Nach dem Herausnehmen werden alle gleichzeitig abgekühlt, bei Verwendung von 1%iger Stärkelösung mit Wasser auf gleiches Volumen gebracht. Im anderen Falle wird von einer $^1/_{50}$-Normal-Jodlösung tropfenweise so lange zugesetzt, bis der blaue Ton bleibt. Dasjenige Röhrchen, in dem in der absteigenden Reihe zuerst ein blauer Farbenton sich zeigt, stellt die Grenze der Wirksamkeit vor. Wohlgemuth berechnete die Fermentmenge in der Weise, dass er die Anzahl ccm einer 1%igen Stärkelösung bestimmte, die durch 1 ccm der Fermentlösung des Harns in der angegebenen Zeit bis zu Dextrinen vollständig abgebaut wurde. Wenn beispielsweise 0,1 ccm Harn gerade noch imstande war in 24 Stunden 5 ccm einer 1%igen Stärkelösung vollständig zu Dextrinen abzubauen, so berechnete sich daraus für den betreffenden Harn eine Fermentmenge von $10 \times 5 = 50$ Fermenteinheiten.

Die von E. Müller angegebene Methode wurde von Schaumberg[1]) klinisch überprüft. Im normalen Harn hört die Wirkung bei 20facher Verdünnung auf. Der Morgenurin des nüchternen Patienten enthält konstant Diastase. Findet sich ein hohes spezifisches Gewicht des Harnes, aber geringer Diastasegehalt, so ist mit einer pathologischen

[1]) Schaumberg, Inaug.-Diss. Marburg 1910.

Digitized by Google

Verminderung der Ausscheidung zu rechnen. Einige Stunden nach einer Nahrungsaufnahme ist die diastatische Verdauungskraft des Harnes erhöht. Ebenso auch im Hunger. Unter 20 Diabetesfällen zeigte sich der Diastasegehalt nur zweimal vermindert, sonst unverändert. Bei Nephritis bestand gewöhnlich eine Herabsetzung. Ähnlich spricht sich Rosenthal[1]) aus.

4. Labferment.

Die Angaben über die Anwesenheit von Lab im Harn decken sich nicht. Dort, wo Milchgerinnung gefunden wurde, wurde eine Labwirkung vermutet (Grützner, Holovtschiner, Helwes)[2]), nach Boas jedoch nicht bewiesen.

Für den Nachweis von Labferment empfahl Holovtschiner 20 ccm Harn mit 5 ccm 0,2 %iger Salzsäure anzusäuern und hierauf 10 ccm ungekochte Milch zuzusetzen. Nach wenigen Minuten soll Käsung eintreten. Boas, der gekochte Milch verwendete, beobachtete erst nach Stunden Gerinnung. Der Versuch gelang nicht in jedem Harn.

Nach Fuld und Blum[3]) gelingt der Labnachweis im nativen Harn nicht, wohl aber wenn in demselben das Ferment durch Säure aktiviert wird. Sie verfuhren folgendermassen: Zu 9 ccm Harn wurde 1 ccm Normal-Salzsäure gegeben und 10—15 Minuten stehen gelassen; dann wurde durch Zusatz von 1 ccm Normal-Natronlauge wieder neutralisiert. Hierauf wurde 1 ccm einer 20 %igen Chlorcalciumlösung zugesetzt. Von dieser Flüssigkeit wurden fallende Mengen von 2, 1, 0,8, 0,6, 0,4, 0,2 ccm mit je 5 ccm ungekochter Magermilch zusammengebracht. Die Einwirkung erfolgte bei Zimmertemperatur (20°). Bei Hunden, denen 20 bis 30 ccm reiner Hundemagensaft in die Bauchhöhle injiziert worden war, enthielt der Urin erst nach mehreren Stunden deutliche Labwirkung. Kunimatsu Takeda[4]) fand beim Menschen auch in pathologischen Fällen einen Parallelismus zwischen der Lab- und der peptischen Wirksamkeit.

5. Lipase.

Vorkommen. Das fettspaltende Ferment ist sehr leicht zerstörbar. Schon kurzer Aufenthalt in der Blase genügt, um die Wirksamkeit aufzuheben. Das Ferment fand sich im Kaninchenharn nach Unterbindung des Ductus pankreaticus (Rosenberg), nach experimenteller Pankreasschädigung bei Hunden, in grösster Menge bei künst-

[1]) Rosenthal, Deutsche med. Wochenschr. 1911. Nr. 20.
[2]) F. Helwes, Pflügers Arch. 43. 384. 1888.
[3]) Fuld u. Blum, cit. bei Fuld u. Hirayama. Deutsche med. Woch. 1063. 1910.
[4]) Kunimatsu Takeda, Deutsche med. Wochenschr. 1910. 1807.

Digitized by Google

licher akuter Pankreas-Hämorrhagie, sowie 3—5 Tage nach Verschluss des Pankreasausführungsganges (Albion Walter Hewlett)[1].

Zu ihrem Nachweis wurde zu je 1 ccm Harn 2 ccm Milch, die mit einer Spur 1 %iger Sodalösung alkalisch und mit Lackmus blau gefärbt war, hinzugefügt. Bei Brutwärme soll das Ferment in diesem Gemenge aus den Fettstoffen der Milch Fettsäuren entwickeln. Wenn ein fettspaltendes Ferment anwesend war, trat Rotfärbung auf (Rosenberg).

Eine feinere Prüfung ist die Prüfung auf die esterspaltende Fähigkeit des Fermentes. Es werden bestimmte, fermentativ sehr leicht spaltbare Ester verwendet, wie Monobutyrin, der von Henriot eingeführte, einfach substituierte Buttersäure-Glycerinester oder Monoacetin, der entsprechende Essigsäure-Glycerinester. Die Spaltung wird an der Zunahme des Säuregrades des Harnes gemessen. Zu 100 ccm toluolisierten Harn wurde 1 ccm konzentriertes Monoacetin zugesetzt und 24 Stunden bei 40^{0} gehalten. Vorher und nachher wurde die Acidität des Harns bestimmt. Im normalen Menschenharn ergab sich keine Differenz (Falk und Kolieb). M. Loeper und D. Ficai[2]) soll der Nachweis der lipolytischen Wirksamkeit in einzelnen Fällen (Nephritis und Diabetes) gelungen sein.

Für die Frage, inwieweit eine Lipasurie eine praktische Bedeutung für die Diagnose der Nephritis besitzt, kommt Tanfani[3]) zu dem Resultat, dass in allen Fällen von vermehrter Lipasurie auch Albuminurie besteht, während das Umgekehrte nicht zu Recht besteht. Er schliesst sich der Anschauung von Loeper und Ficai an, die die Lipase als ein Produkt der Nierenzelle hinstellen. Pribram und Lövy[4]) haben ebenfalls die klinische Bedeutung der Lipasurie studiert. In einem Falle von Adipositas cerebro-genitalis zeigte sich während bedeutender Gewichtszunahme erhebliches Sinken der Lipasemenge im Harn.

6. Proteolytische Zellfermente.

Vorkommen. Für den Harn kommt das proteolytische Leukocytenferment in Betracht. Die gelappt-kernigen Leukocyten des Menschen besitzen ein Ferment, das durch Zerfall des Zelleibs frei geworden eine heterolytische eiweissverdauende Wirksamkeit entfaltet (E. Müller und Jochmann)[5]). Gelangen Leukocyten in grösserer Menge im Harn zum Zerfall oder ist Gelegenheit vorhanden, dass an einer Stelle des

[1]) Albion Walter Hewlett, Journ. med. research. 11. 377—398.
[2]) M. Loeper u. D. Ficai, ref. Jahresb. f. Tierchemie 37. 219. 1907.
[3]) Tanfani, Gazz. degli ospedali 1910. Nr. 144.
[4]) Pribram und Löwy, Zeitschr. f. physiol. Ch. 76. 489. 1912.
[5]) Müller und Jochmann, Verhandl. d. 24. Kongr. f. inn. Med. 1907.

Organismus diese Eiterzellen massenhaft zugrunde gehen und dass deren Zerfallsprodukte reichlich resorbiert werden, so kann man gelegentlich im Harn dieses Zellferment nachweisen. Es findet sich daher bei Cystitis, bei Pyelitis, bei einzelnen Formen der Nephritis, bei menstruierenden Frauen; es kommt jedoch, wie Bittorf[1]) gefunden hat, auch vorübergehend während der Lösung der krupösen Pneumonie und kurz nachher im Harn vor und verschwindet nach einem bis zwei Tagen wieder daraus.

E. Müller und H. Kolaczek[2]) fanden in eiweissreichen Harnen von Stauungsniere und parenchymatöser Nephritis gelegentlich bei Zusatz einer bestimmten Harnmenge zum verdauenden Eitertropfen die Heterolyse desselben aufgehoben und schlossen daraus auf das Auftreten eines entsprechenden Antifermentes.

Zum Nachweis des proteolytischen Leukocytenfermentes wird ein Tropfen des Harns resp. des Centrifugates auf eine Löfflersche Blutserumplatte gebracht und daselbst 24—48 Stunden bei 50—60° im Brutschrank belassen. Im Falle der Anwesenheit des Fermentes bildet sich an der Stelle des Harntropfens eine seichte Delle.

Auch die direkte und indirekte Fibrinflockenmethode im schwach alkalisch gemachten Harn wurde von Bittorf mit Erfolg hier angewendet.

Im Anschluss soll noch der sogenannten Ferment-Reaktion nach Rewidzoff[3]) Erwähnung getan werden. Wenn man eine Mischung von je 4 Tropfen einer Lösung von 4,5 g p-Phenylendiamin in 100 ccm absoluten Alkohol, 4,5 g α-Naphthol in 100 ccm 50%igen Alkohol, 4,5 g Na_2CO_3 in 100 ccm Wasser gibt, erhält man eine farblose Flüssigkeit, die zunächst farblos bleibt, nach 3—4 Stunden aber rötlich wird. Gibt man 1 ccm Urin dazu, so wird der Farbenton nicht wesentlich beeinflusst. Wenn man aber 10 Tropfen einer 3%igen H_2O_2-Lösung hinzusetzt, so wird die Mischung im Laufe von 2 Minuten blauviolett. Wird statt Harn Wasser zugesetzt, so erfolgt ein ähnlicher Umschlag erst nach 24 Stunden. Harn von Gesunden, der frei von Leukocyten, Blut und zelligen Bestandteilen sein muss, gibt diese Reaktion. Bei Leberkrankheiten, Tuberkulose und septischen Prozessen fehlt die Reaktion. Aufkochen des Harns hat keinen Einfluss, ebenso nicht Zusatz von Cyankali. Die wirksame Substanz wird von Fibrinflocken nicht adsorbiert. Harnsäure in einer Konzentration, wie sie im Harn vorkommt, kann diese Reaktion auch auslösen. Der negative Ausfall bei den zitierten Krankheiten wird durch einen Hemmungskörper, der sich mit Tierkohle aus dem Harn entfernen lässt, verursacht.

[1]) Bittorf, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 91. 212. 1907.
[2]) E. Müller und H. Kolaczek, Münch. med. Wochenschr. 1907. S. 354.
[3]) Rewidzoff, Dissert. Zürich 1911.

Digitized by Google

Harn-Sedimente.

Von weiland F. Falk und H. Eppinger-Wien.

Die aus dem Harn beim Stehen desselben sich abscheidenden Niederschläge setzen sich einerseits aus Substanzen zusammen, die unter den gegebenen Verhältnissen im Harn nicht in Lösung gehalten werden können; andererseits handelt es sich um Zell- und Gewebselemente, um den Harnwegen eigentümliche Formelemente, sowie um pflanzliche, respektive tierische Parasiten. Die erste Gruppe wird gewöhnlich als nichtorganisierte, die zweite Gruppe als organisierte Sedimente zusammengefasst.

Verunreinigungen des Harns vom Darm- resp. Geschlechtstrakt herrührend sind namentlich bei Frauen nicht allzu selten.

Die Untersuchung des Sediments beschränkt sich auf die mikroskopische Untersuchung, sowie auf einzelne chemische Reaktionen. Ihr Wert für die Beurteilung des Harns und für die auf den Körperzustand daraus abzuleitenden Schlüsse ist nicht abzuschätzen. Trotzdem muss man sagen, dass die mikroskopische Untersuchung vom klinisch-diagnostischen Standpunkte aus viel von ihrer früheren Überschätzung eingebüsst hat. Dies gilt besonders von der Beurteilung anorganischer Sedimente. Bei dieser Gelegenheit soll darauf aufmerksam gemacht werden, dass es durchaus unstatthaft ist, auf Grund des Harnsedimentes allein — wie es leider nur zu oft geschieht — abschliessende Diagnosen zu stellen. Angaben, wie man sie auf Laboratoriumsanalysen nur zu oft lesen kann: „viel Harnsäurekrystalle, Neigung zu Gicht" sind nicht nur unstatthaft, sondern zumeist falsch. — Eine Diagnose steht nur dem Arzte, der den Patienten in toto sieht, zu.

A. Nichtorganisierte Sedimente.

Die hierher gehörigen Niederschlagsbildungen erfolgen entweder nach dem Entleeren des Harns oder schon innerhalb der Harnwege. Es sind einfache chemische Körper oder Verbindungen, die infolge der

Digitized by Google

Herabsetzung der Temperatur, der Übersättigung und infolge chemischer Umsetzungen im Harn ausfallen.

Erwähnt sind im folgenden die Sedimente der Harnsäure und ihrer Salze, der Erdphosphate, des oxalsauren, des kohlensauren, des schwefelsauren Kalks, der organischen Verbindungen wie der Hippursäure, des Cystins, des Xanthins, des Leucins und Tyrosins, des Cholesterins, der Fette, Lipoide und Farbstoffe.

Untersuchung des Sediments.

Ist der Harn sehr reich an Sedimenten, so kann es zur mikroskopischen Untersuchung genügen, einen Tropfen des trüben Harns zu verwenden. In den meisten Fällen wird man sich zur Gewinnung der Niederschläge eines eigenen Verfahrens, der Sedimentierung, bedienen.

Seitdem das Ausschleudern des Sediments mit der Centrifuge von Litten[1]) und von Stenbeck[2]) empfohlen wurde, hat sich diese Methode rasch verbreitet, und heute ist fast allgemein an die Stelle der Sedimentgewinnung mit Hilfe der blossen Schwerkraft (Spitzglas) die Sedimentierung mit Hilfe der Centrifugalkraft getreten. Die Vorteile sind in der Abkürzung der dazu notwendigen Zeit und in der Möglichkeit zu suchen, das frische Sediment eines unveränderten Harns beobachten zu können. Die Formbestandteile erleiden durch die Centrifuge kaum einen Schaden. Man bekommt hier und da mit der Centrifuge kein Sediment, trotzdem ein solches vorhanden ist; namentlich die Bakterien werden nur unvollkommen ausgeschleudert. In solchen Fällen empfiehlt es sich, vorausgesetzt, dass der Harn nicht eiweisshaltig ist, nach Strassburger[3]) einen Teil Harn mit zwei Teilen Alkohol zu versetzen, um die Flüssigkeit spezifisch leichter zu machen.

Nach Winkler und Fischer[4]) soll in solchen Harnen die Methode des Sedimentierens mit dem galvanischen Strome gute Resultate liefern. Das Prinzip besteht darin, dass in ein Harngefäss die beiden Eisenpole einer elektrischen Leitung getaucht werden; es bilden sich durch Elekttrolyse im Harn Gasblasen, die das Sediment mit in die Höhe reissen. Die trübe Schaumschichte an der Harnoberfläche enthält das Sediment.

Das Sediment wird vom Boden des Gefässes auf einen Objektträger gebracht. Dies geschieht am besten mit Hilfe einer Pipette, die mit dem Finger an ihrer weiten Öffnung verschlossen, bis zur Sedimentschichte eingetaucht wird, worauf durch Lüften des Fingers etwas von dem Sediment eingesaugt und nach abermaligem Finger-

[1]) Litten, Deutsche med. Wochenschr. S. 23. 1891.
[2]) Stenbeck, Zeitschr. f. klin. Med. 20. 457. 1892.
[3]) Strassburger, Münch. med. Wochenschr. Nr. 16. 1900.
[4]) Winkler und Fischer, Zentralbl. f. klin. Med. 14. 1. 1893.

Digitized by Google

verschluss herausgehoben wird. Es kann auch die über dem Sediment stehende klare Flüssigkeit abgegossen, ein Sedimenttropfen auf den Objektträger gebracht und mit einem Deckglas zugedeckt werden.

Für die Herstellung von Dauerpräparaten eines nicht organisierten Sedimentes eignet sich zum Luftabschluss die Umrandung des Deckglases mit Asphaltlack, mit Glyceringelatine oder mit der Farantschen Gummilösung [1]). Weitaus haltbarere Präparate erhält man jedoch, wenn man einen Tropfen des Sedimentes auf einen Objektträger bringt, die Flüssigkeit etwas abdunsten lässt und den Rückstand mit einem Tropfen einer verflüssigten Glyceringelatine [2]) verreibt. Ein Deckglas wird daraufgelegt und dessen Rand eventuell mit Glyceringelatine noch umzogen.

1. Harnsäure und harnsaure Salze (Urate).

(Tafel III. Fig. 1, Fig. 2, Fig. 4.)

Vorkommen. Im sauren Harn beobachtet man nach dem Entleeren oder nach längerem Stehen einen allmählich sich absetzenden Niederschlag, der mit Vorliebe Farbstoffe des Harnes mitreisst und in der Regel gelblich-rot gefärbt ist. Der Niederschlag setzt sich im wesentlichen aus harnsauren Salzen zusammen, doch findet sich neben diesen auch Harnsäure vor.

Dem Uratsediment begegnet man in dem normalen sauren Harn nach reichlicher animalischer Kost. In grösserer Menge tritt er auf in konzentriertem Harn im Sommer, bei Fieber, bei Diarrhöe, bei Stauungen im Kreislauf oder bei bestimmten Erkrankungen, wie bei Leukämie, Gicht, bei ausgedehnterem Zerfall von nucleinhaltigem Gewebe.

Der im Harn erscheinende Harnsäurewert setzt sich aus dem Werte der exogenen, durch die Nahrung zugeführten, und aus dem Wert der endogenen, vom abgebauten Körpereiweiss abzuleitenden Harnsäure zusammen.

Bildung. Die Löslichkeit der Harnsäure in Wasser ist sehr gering. Nach His und Paul [3]) lösen sich 0,0256 g, nach Klemperer [4]) 0,027 g Harnsäure in einem Liter Wasser bei 17⁰.

Im Harn stehen die Lösungsbedingungen weitaus günstiger. Die Löslichkeit der Harnsäure hängt hier ausser von der Konzentration

[1]) Dieses Präparat setzt sich zusammen aus Glycerin, Aqua dest., einer gesättigten wässerigen Lösung von Acidum arsenicosum aa und der halben Volummenge Gummi arabicum.

[2]) Eine Mischung von Glycerin — Gelatine āā wird im Wasserbad aufgekocht und nach dem Verflüssigen derselben wieder zum Erstarren gebracht. Vor dem Gebrauch wird die gelatinöse Masse durch leichtes Erwärmen verflüssigt.

[3]) His u. Paul, Zeitschr. f. phys. Chem. 31. 1. 1901.

[4]) Klemperer, Verhandl. d. Kongr. f. inn. Med. 20. 1902.

Digitized by Google

noch ab von der Temperatur, von der Acidität des Harns und von der Anwesenheit bestimmter, zumeist kolloidaler Körper.

In dem Harn, der unter den gegebenen Verhältnissen in einem, für Harnsäure bei 37° konzentriertem Zustand ausgeschieden wird, genügt der Abfall der Temperatur des Harns bis zur Zimmertemperatur zum Aussedimentieren der Harnsäure. Auch indirekt auf dem Wege der Einwirkung auf die anderen Harnbestandteile, namentlich die Phosphate, kann die Temperatur hierbei von Einfluss sein.

Die Acidität des Harns ist gegeben durch das Mengenverhältnis der dem zweifachsauren Phosphat angehörenden Phosphorsäure zu der Gesamtphosphorsäure (s. S. 143). Der Harnsäure gegenüber verhält sich das zweifach saure Phosphat wie eine Säure, wirkt also fällend, das einfachsaure Phosphat hingegen wirkt lösend. Eine Verschiebung in dem gegenseitigen Verhältnis der Phosphate wird daher auf die Löslichkeit der Harnsäure nicht ohne Einfluss bleiben.

Solche Verschiebungen erfolgen im Harn unter bekannten und zum Teil unbekannten Verhältnissen. Jedenfalls wird sich zwischen den gelösten Harnbestandteilen: der Harnsäure, den Uraten und den Phosphaten ein Gleichgewichtszustand einstellen, dessen Änderung ein Aussedimentieren der einen oder der anderen Substanz zur Folge haben wird. Nach Pfeiffer[1]), Zerner[2]) kann aus einer neutralen Phosphatlösung Harnsäure zur Ausscheidung gebracht werden durch Mononatriumphosphat, wenn kein neutrales Phosphat im Überschuss vorhanden ist. Chlornatrium, Calcium- und Magnesiumsalze, in den im Harn vorkommenden Mengen, ändern an diesen Verhältnissen nichts. Im Harn hat Zerner auf Grund einer Reihe von Untersuchungen ein bestimmtes Verhältnis zwischen neutralem Phosphat und Harnsäure (= 1 : 0,35—0,4) als Verhältnis von Grenzwerten gefunden, innerhalb welcher die Harnsäure in Lösung bleibt. Es wird beeinflusst von der Konzentration und von der Temperatur des Harnes.

Nach Ritter[3]) wird in einem künstlichen Gemisch die aus saurem harnsaurem Natron durch Mononatriumphosphat ausfallende Harnsäure durch Dinatriumphosphat in Lösung gehalten. Andererseits kommt dem Dinatriumphosphat eine aussalzende Wirkung zu. Ob die letztere auch im Harn zur Geltung kommt, ist nicht entschieden. Im künstlichen Gemisch soll das Aussedimentieren durch die Anwesenheit von Harnstoff beeinflusst und der Vorgang des Aussalzens hintangehalten werden.

[1]) Pfeiffer, Verhandl. d. Kongr. f. inn. Med. 1888. 7. 331.
[2]) Zerner, Wiener klin. Wochenschr. 1893. S. 272.
[3]) Ritter, Zeitschr. f. Biol. 1897. 35. 155.

Digitized by Google

Im normalen Harn findet sich ein grosser Teil der Harnsäure in physikalischer Lösung. Es kann dieser Teil bis 96 % der gesamten Harnsäure ausmachen (Klemperer). Die Frage, wie es möglich ist, dass der Harn so viel Harnsäure in übersättigter Lösung enthält, scheint sich dahin beantworten zu lassen, dass die Anwesenheit bestimmter Substanzen, namentlich kolloidaler Substanzen zur Löslichkeit desselben beiträgt.

Aus eiweisshaltigem Harn fällt die Harnsäure weitaus schwerer aus; dieselbe Erscheinung hat Klemperer nach Zusatz von Pepton zu einer Harnsäurelösung beobachtet. In den meisten Harnen tritt beim Abkühlen derselben ein Niederschlag von Quadriurat auf. Man erhält aus einem Eiweissharn nach Zoya[1]) durch Abkühlen kein Uratsediment. Diese Beobachtung ist auch aus dem Grunde bemerkenswert, weil Eiweisskörper in ihrer sauren Eigenschaft oft zur Verschiebung der Mengenverhältnisse von einfach- und zweifachsauren Phosphaten im Sinne einer Vermehrung der letzteren führen.

Das Ausfallen der Harnsäure wird nach Roberts[2]), Klemperer durch die Anwesenheit der Harnfarbstoffe verzögert. Insbesondere beeinflusst der normale Harnfarbstoff, das Urochrom, die Löslichkeit der Harnsäure in günstigem Sinne (Klemperer). Rüdel[3]) hat hervorgehoben, dass der Harnstoff die Harnsäure in Lösung halte, doch hat sich dies nach den Untersuchungen von His und Paul nicht bestätigt. Dagegen bilden Substanzen wie die Nukleinsäure und Formaldehyd mit der Harnsäure leicht lösliche Verbindungen.

Aus Untersuchungen von Lichtwitz[4]) ergibt sich, dass der Menge und dem Aufteilungsgrad der Kolloide eine hervorragende Rolle im Lösungsvermögen von Harnsäure zukommt.

Ausserdem können noch andere Umstände für das Aussedimentieren der Harnsäure in Betracht kommen. Es sei hier nur an die Untersuchungen Pfeiffers[5]) erinnert. Wird ein vorher durch ein gewöhnliches Filter filtrierter Harn noch durch ein sogen. Harnsäurefilter, d. i. ein Filter, auf dem sich reinkrystallisierte Harnsäure befindet, durchgeschickt, so hält das letztere die im Harn gelöste Harnsäure zurück. Das Filtrat gibt nun, mit Salzsäure nach Heinz behandelt, keinen Harnsäureniederschlag mehr. Das Harnsäurefilter hat gleichzeitig um das Gewicht der früher im Harn gelösten Harnsäure zugenommen. Es ist hier die Ausscheidung der Harnsäure durch die

[1]) Zoya, Arch. ital. di clin. med. 32. 11. 1893.
[2]) Roberts, On the chemistry and therapeutics of Uric Acid Gravel and Gout. London. 1892.
[3]) Rüdel, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 30. 469. 1892.
[4]) Lichtwitz, Zeitschr. f. phys. Chem. 64. 144. 1910.
[5]) Pfeiffer, Verhandl. f. inn. Med. 5. 1886.

Digitized by Google

Harnsäurekrystalle beschleunigt worden, ebenso wie das Auskrystallisieren einer Substanz aus der gesättigten Lösung durch eingebrachte vorgebildete Krystalle dieser Substanz beschleunigt wird. Aus demselben Prinzipe erklärte sich Pfeiffer die Bildung der Harnsäuresteine. Nach His[1]) lässt sich der in physikalischer Lösung im Harn befindliche Teil der Harnsäure durch Zusatz von fein verteilter Harnsäure quantitativ ausschütteln. Verunreinigungen des Harns mit organisierten Bestandteilen beeinflussen die Sedimentbildung von Harnsäure nicht.

Am Uratsediment nimmt die Harnsäure einen grösseren oder geringeren Anteil: dies regelt sich zum Teil auf Grund der H-Ionen-Konzentration des Harns. Je reicher der Harn an H-Ionen ist, um so mehr Harnsäure und weniger harnsaure Salze wird das Sediment enthalten. Ritter hat in einer Reihe von normalen und pathologischen, insbesondere von Harnen Gichtkranker die Gesamtphosphorsäure, die Harnsäure und die Acidität des Harns nach Maly bestimmt. Es stellte sich heraus, dass überall dort, wo die Harnsäure sich krystallinisch absetzte, die Gesamtphosphorsäure zur Deckung des nachgewiesenen Säuregrades als Mononatriumphosphat nicht ausreichte. Es mussten noch andere saure Körper anwesend gewesen sein. Der Ausfall eines krystallinischen Harnsäure-Sedimentes erwies sich als eine Eigenschaft vorwiegend der prozentisch an Harnsäure ärmeren Harne, während in Harnen mit höherer Harnsäurekonzentration meist das amorphe Sedimentum lateritium auftrat.

Nach den Untersuchungen von O. Neubauer und von Erich Meyer[2]) findet Sedimentierung von Harnsäure meist in solchen Harnen statt, bei denen Acidität, und zwar die „aktuelle“, nicht so sehr die titrierbare Acidität erhöht ist, z. B. in Harnen, deren H-Ionengehalt 2×10^{-6} bis 2×10^{-5} beträgt (gegenüber 2×10^{-7} in der Norm). Doch müssen für das Ausfallen noch andere Faktoren in Betracht kommen. In einzelnen Fällen nimmt, wie E. Meyer beobachtete, nach dem Ausfallen der Harnsäure bei längerem Stehen die titrierbare Acidität und die H-Ionenkonzentration zu.

Die vierfachsauren harnsauren Salze (Quadriurate) sind in saurem Harn wenig beständig. Sie zerfallen in Biurate und Harnsäure, welch letztere sich an den Wänden absetzt. Immerhin entfällt auf die harnsauren Salze der Hauptanteil des in saurem Harn ausgefallenen Sedimentes. Es besteht wesentlich aus Quadriurat.

Das Auftreten desselben erklärt sich nach Huppert am einfachsten unter der Annahme, dass der von der Niere secernierte Harn

[1]) His, Therapie d. Gegenwart. S. 434. 1901.
[2]) Verhandl. d. Kongr. f. inn. Med. 28. 160, 162. 1911.

Digitized by Google

unmittelbar nach seiner Ausscheidung Biurat enthält. Als solches krystallisiert es, entsprechend seiner geringen Konzentration, nicht aus. Unter der Einwirkung des vorhandenen zweifachsauren Phosphates und der dadurch bedingten schwachen Acidität wird gelöstes Biurat allmählich in das schwerer lösliche Quadriurat übergeführt. Dieser Prozess schreitet so lange fort, bis mehr Quadriurat gebildet wurde, als der Harn in Lösung halten kann, so dass ein Teil ausfällt. Durch stärkeres Abkühlen des Harns kann diese Niederschlagsbildung vermehrt werden und kann auch in solchen Harnen zustande kommen, in denen spontan kein Sediment aufgetreten war. Nachträgliches Erwärmen auf Körpertemperatur bringt jedoch das Uratsediment nicht wieder zur Lösung. Diese Tatsache, auf die Voit und Hofmann[1]) hingewiesen haben, erklärt sich aus der Eigenschaft des Quadriurates, schwerer löslich zu sein, als das Biurat, aus welchem es entstanden ist.

In jüngster Zeit wurde von R. Kohler[2]) der Beweis zu bringen gesucht, dass Quadriurate im eigentlichen Sinne des Wortes, d. h. übersaure Salze der Harnsäure nicht existieren. Das Quadriurat ist nach ihm ein Gemisch von primärem Urat und Harnsäure im Verhältnis 1 : 1. Beim Eintragen von primären Phosphaten in übersättigte Biuratlösung wird ebenfalls eine Mischung von Biurat und Harnsäure gebildet.

Mit dem Auftreten des Uratsedimentes nimmt nach Voit und Hofmann die Acidität des Harns ab. Dies erklärt sich aus der Ausscheidung der dreifachsauren Urate aus dem Harn.

Näheres siehe Kap. Harnsäure S. 1000 ff.

Der Kohlensäuregehalt des Harns kann unter verschiedenen Umständen wechseln. Ihm kommt nach Klemperer[3]) eine Einwirkung auf die Lösungsverhältnisse der Harnsäure und ihrer Salze insofern zu, als ein höherer Gehalt an Kohlensäure bei saurer Reaktion ein Ausfallen der Harnsäure, ein niederer Kohlensäuregehalt ein Sedimentieren der Urate erleichtert.

Eigenschaften. Die Grundform der Harnsäurekrystalle ist die rhombische Tafel. Durch Abstumpfen und Abrunden der stumpfen Ecken entsteht die Wetzsteinform, durch Überschichten der letzteren die Fass- und Tonnenform. Ein gradliniger Abschliff der spitzen Ecken führt zur sechsseitigen Krystallform. Seltener sind die Stäbchen, Nadeln, Dumbbells (Hantelform), die Sanduhr-, Kamm-, Rosetten-, Sonnenblumenformationen. Ein Harnsäureniederschlag löst sich beim Erwärmen nicht, ebensowenig auf Säurezusatz, dagegen löst er sich in Alkalien. Er gibt die Murexidreaktion (siehe S. 1029).

[1]) Voit und Hofmann, Zeitschr. f. analyt. Chem. 7. 397.
[2]) Kohler, Zeitschr. f. physiol. Chem. 70. 360. 1911.
[3]) Klemperer, Zeitschr. f. diät. u. phys. Ther. 5. 48. 1901.

Digitized by Google

Mit Rücksicht auf die Krystallform können die sechsseitigen Cystintafeln und die oft wetzsteinförmigen Xanthinkrystalle zu Verwechslungen führen. Die ersteren lösen sich in Salzsäure und in Ammoniak, ebenso die letzteren und geben keine Murexidprobe (siehe diese).

Bei der Analyse der Niederschläge von harnsauren Salzen wurden alle im Harn vorkommenden anorganischen Basen gefunden, wie Ammoniak, Natron, Kali, Kalk und Magnesia.

Harnsaures Ammonium findet sich als einziges Urat im alkalischen Harn. Lässt sich diese Verbindung in frisch gelassenem Harn nachweisen, so deutet dies auf einen in der Harnblase bereits erfolgten Zersetzungsprozess. Als eigentliche Ursache wird das Bact. ureae beschuldigt. Es kann jedoch vorkommen, dass neben dem Ammoniumurat im alkalischen Harn auch Harnsäure-Krystalle und saures Uratsediment zu sehen sind. Diese Erscheinung ist so zu erklären, dass in dem ursprünglich sauren Harn sich die erwähnten Niederschläge ausgebildet haben und nachträglich trotz eingetretener ammoniakalischer Gärung noch erhalten blieben. Auf diese Weise kann man neben den Stechapfel-, Milben- und Morgensternformen des Ammoniumurates die Wetzsteinkrystalle der Harnsäure und amorphe Uratkörnchen beobachten. Das saure harnsaure Ammonium krystallisiert oft in den abenteuerlichsten Formen. Neben den genannten Bildungen findet sich noch die Kugel-, die Hantelform (Dumbbell), seltener werden Nadeln und Büschel gesehen.

Die anderen Urate finden sich meist amorph als feine Körnchen in Streifen, in Haufen und moosartig; Krystallbildung des sauren harnsauren Natron ist selten. Ein eigentümliches Sediment, welches vielleicht aus Calciumurat bestand, hat Delépine[1]) manchmal neben Calciumoxalat auch bei Gicht beobachtet. Es bildete selbst in heissem Wasser unlösliche, farblose prismatische Krystalle, gab die Murexidreaktion und zersetzte sich in Salzsäure schwerer als das gewöhnliche Uratsediment. Die Krystalle entstanden auch beim Behandeln von Harnsäure oder Uratsediment mit Kalkwasser oder hartem Wasser.

Am bekanntesten sind die Urate in der Erscheinung des Sedimentum lateritium, eines oft sehr reichlichen Sedimentes, das die verschiedensten Farbentöne annehmen kann. Man beobachtet alle Übergänge von rosa-, fleisch- und ziegelrot, von gelb bis braun. Auch mit, dem normalen Harn fremden Farbstoffen beladen sich die Uratniederschläge, so dass sie bisweilen blau, tiefbraun und grünlich erscheinen.

Nach Bence Jones enthält das Sedimentum lateritium mehr Harnsäure als durch das gleichzeitig gefundene Alkali gebunden werden kann.

[1]) Delépine, Journ. of Phys. 8. 2. 1887.

Digitized by Google

Die Farbe der schmutzig gelben Sedimente rührt vom Urochrom und vom Urobilin her, wovon das Urochrom chemisch gebunden sein soll. Das Urobilin lässt sich auswaschen. Die roten Sedimente enthalten Uroerythrin, welches sie an heissen Amylalkohol abgeben; ihre Lösung in heissem Wasser zeigt das Uroerythrinspectrum. Natron- und Kalilauge verwandelt ihre Farbe in Grün. Bei der Zersetzung der Sedimente (durch Wasser oder durch Säuren) bleiben die Farbstoffe an der entstehenden Harnsäure haften. Phenol entzieht den Uratsedimenten keinen Farbstoff (Kramm)[1]).

Nach Garrod[2]) haben nur Urochrom und Uroerythrin von den normalen Harnpigmenten die Fähigkeit, die spontan auskrystallisierenden Harnsäurekrystalle zu färben. Urobilin ist in ihnen nicht vorhanden. Der Farbstoff bestimmt wesentlich ihre Form.

Aus uroerythrinreichen Lösungen (Harn) abgeschiedene Harnsäure bildet zartrote oder orangefarbene, meist unregelmässig prismatische, auch in Rosetten und Kreuzen angeordnete Krystalle; in Masse sehen die Krystalle schön rot aus. Die Grundfarbe der Wetzsteinformen ist immer durch das Urochrom bedingt. Meist enthalten solche Krystalle, die sich spontan schnell ausgeschieden haben, auch Uroerythrin. Bloss urochromhaltige Krystalle kommen vor, bloss uroerythrinhaltige nicht.

Die Krystalle aus bilirubinreichem Harn erscheinen in Masse rötlichbraun, einzeln orange, die aus biliverdinreichem Harn in Masse lederbraun, einzeln grünlich; sie bilden oft Rosetten prismatischer Krystalle. Die in Carbolharn entstandenen Krystalle sind tiefbraun und fast undurchsichtig, in Masse vollkommen schwarz. Blut und die Indigfarbstoffe beteiligen sich nicht an der Färbung der spontan entstandenen Harnsäure.

Die mit Säuren ausgefällte Harnsäure verdankt ihre rötlichbraune Farbe höchstwahrscheinlich grossenteils den schwarzen Zersetzungsprodukten des Urochroms (Uromelanin von Thudichum); manchmal sind sie, wie bereits Heller beobachtete, von Indigblau und Indigrot gefärbt.

Die Harnsäureinfarkte der Neugeborenen bestehen zumeist aus saurem harnsaurem Ammonium. Das Urat ist nach Flensburg[3]) in eine hyaline Eiweissubstanz, wahrscheinlich eine mucinähnliche Substanz, eingelagert.

Für die Diagnose des Sediments ist es wichtig, die Reaktion des Harns zu prüfen. Bei saurer Reaktion wird es sich, vorausgesetzt dass es nicht organisiertes Sediment ist, um ein Uratsediment handeln. Beim Erwärmen löst es sich, ebenso bei Versetzen mit Alkali. Durch Säure wird daraus Harnsäure abgespalten. Wie die Harnsäure, so geben auch ihre Salze die Murexidprobe (siehe S. 1029). Das harnsaure Ammonium tritt nur in alkalisch reagierendem und ammoniakalisch riechendem Harn auf und ist durch seine Form gekennzeichnet; auch dieses

[1]) Kramm, Deutsche med. Wochenschr. S. 44. 1896.
[2]) Garrod, Journ. of Path. and Bacteriol. 1894. S. 100. Ref. Schmidts Jahrb. 250. 1896.
[3]) C. Flensburg, Nord. med. Arkiv. 1894. Ref. Jahresber. f. Tierchem. S. 581. 1893.

Digitized by Google

liefert bei der Behandlung mit Säuren Harnsäure. Sämtliche harnsauren Salze entwickeln beim Glühen Blausäure.

Jedenfalls ergibt sich aus dem Gesagten, dass es unstatthaft ist, aus der Reichlichkeit eines Harnsedimentes auf die absolute Menge der Harnsäure einen Schluss zu ziehen. Reines Uratsediment braucht daher keine pathognomische Bedeutung zu besitzen. Der vielfach fälschlichen Annahme einer „harnsauren Diathese" sollte man erst dann näher treten, wenn sich bei wiederholten Untersuchungen stets der gleiche Befund erheben lässt. Dasselbe gilt von der Gicht. Es ist eine unter Laien und auch Ärzten vielfach verbreitete Annahme, dass der Urin der Gichtiker eine grössere Neigung zur Abscheidung von harnsauren Sedimenten zeigen solle, als der Normaler. Wenn man bedenkt, dass gerade bei der Gicht die Harnsäure im Urin eher vermindert ist, so ist daraus bereits zu erkennen, dass der einfache Nachweis speziell der Harnsäure im Sediment nahezu wertlos ist. Direkt pathognomisch ist eigentlich nur eine Harnsäureverbindung — das harnsaure Ammoniak, allerdings nur im frisch gelassenen Harn —.

2. Phosphorsaure Salze.

(Tafel III Fig. 4, Fig. 5, Fig. 6; Tafel IV Fig. 3c.)

Vorkommen und Bildung. Das Ausfallen eines Sedimentes von phosphorsauren Salzen im Harn hängt von mehreren Faktoren ab: 1. von der Konzentration der an Basen gebundenen Phosphorsäure, 2. von der Reaktion des Harns, 3. von dem Gehalt an Erdalkalien.

1. Der grösste Teil der von den Nieren ausgeschiedenen phosphorsauren Salze leitet sich von der Phosphorsäure ab, die durch die Nahrung zugeführt wird. Bei Zufuhr animalischer Nahrungsstoffe geschieht die Aufnahme vorwiegend in Form von organisch gebundenem Phosphor, bei vegetabilischer Kost vorwiegend in Form anorganischer Phosphorsalze. Die Resorption der Phosphorverbindungen stellt sich weitaus günstiger, wo es sich um organischen Phosphor handelt. Die einmal resorbierten Phosphate gelangen beim Menschen und beim Fleischfresser zum grössten Teil im Harn zur Ausscheidung; auf die Nierenausscheidung hat es bei diesen keinen Einfluss, ob viel oder wenig Kalk dem Organismus gereicht wurde (s. S. 166). Bei Herbivoren wird auch die subkutan eingeführte Phosphorsäure in den Darm wieder ausgeschieden und geht grösstenteils als Calciumphosphat mit dem Kot ab. Durch kalkreiche Einfuhr kann somit beim Menschen der Phosphorgehalt des Harns heruntergehen.

Ganz verschwinden die Phosphate aus dem menschlichen Harn auch im Hunger nicht.

Digitized by Google

2. Während die Phosphorsäurekonzentration im Harn für das Aussedimentieren der Phosphate nur unter gewissen Bedingungen in Betracht kommt, spielt die Reaktion des Harns hierbei unmittelbar eine wesentliche Rolle. Beim Übergang aus der sauren in die alkalische Reaktion beobachtet man ein Ausfallen von Phosphaten. Die Reaktionsänderung kann vor sich gehen als Folgezustand einer Vermehrung der Basen, der Alkalien, des Ammoniaks, oder im Zusammenhang mit einer Verminderung der Säuerung des Harns. Erstere Erscheinung beobachtet man gelegentlich von Zersetzungen, die im Harn vor sich gehen, und bei Einfuhr von Nahrungsmitteln, die reich sind an kohlensauren und pflanzensauren Alkalien sowie an Alkali-Albuminaten. Die zweite Erscheinung ist von den Salzsäure-Sekretionsverhältnissen des Magens abhängig.

Infolge dieser Reaktionsschwankungen wird oft schon beim Harnlassen ein trüber Urin beobachtet. Zumeist ist der Morgenharn klar, während er nach einer Mahlzeit intensiv getrübt sein kann. Da die Trübung im wesentlichen aus Phosphaten besteht, so hat man in solchen Fällen von einer „Phosphaturie" gesprochen. Die Gesamtphosphorsäuremenge ist im allgemeinen bei der Phosphaturie nicht vermehrt. Dies gilt so ziemlich von allen klinischen Formen der Phosphaturie, die genau untersucht wurden. Es handelt sich vielmehr um eine unter den genannten Umständen erfolgte Umsetzung von gelösten sauren Phosphaten in unlösliche einfachsaure oder normale phosphorsaure Salze. Diese Umsetzung soll später noch eingehend erörtert werden. Die bei Phosphaturie beobachteten Niederschlagsbildungen bestehen fast durchwegs aus phosphorsaurem Kalk und phosphorsaurer Magnesia.

Für die Fälle, wo der Phosphatausfall unter dem Einfluss der vermehrten Alkaliausscheidung erfolgt, hat H. Leo [1]) die Bezeichnung „Alkalinurie" vorgeschlagen, bei verringerter Säureabgabe in den Harn wird nach Neuberg [2]) besser von einer „Anacidurie" gesprochen.

3. Schliesslich führt auch eine Vermehrung der Ausscheidung an Kalk und Magnesia im Harn zur Phosphaturie (J. Sendtner [3]), R. Panck [4]), F. Soetbeer [4]), L. Tobler [5])) (s. S. 166). Dies kann eine kalk- und magnesiareiche Nahrung oder eine Anomalie im Kalk- und Magnesiastoffwechsel zur Ursache haben. Es verdient hervorgehoben zu werden, dass die Erdalkalien sehr stark vermehrt sein können, ohne

[1]) H. Leo, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **73**. 605. 1902.
[2]) C. Neuberg, Die Phosphaturie. v. Noordens Handb. d. Path. d. Stoffwechsels. 2. Aufl. **2**. 501. 1907.
[3]) J. Sendtner, Münch. med. Wochenschr. S. 671. 1888.
[4]) R. Panck, Jahresber. f. Tierchemie **30**. 772. 1900. — F. Soetbeer, Jahrb. f. Kinderheilk. **56**. 1. 1902.
[5]) L. Tobler, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **52**. 116. 1905.

Digitized by Google

dass alle im Harn vorrätige Phosphorsäure in Form der schwerlöslichen Kalk- und Magnesiaphosphate gebunden sein muss.

Gelegentlich kann man die Beobachtung machen, dass ein bei der Entleerung leicht trüber Harn nach dem Abfall zur Zimmertemperatur sich wieder aufhellt. Ausserdem ist es eine bekannte Erscheinung, dass in vielen Harnen beim Kochen derselben eine Trübung von Phosphaten entsteht, die beim Erkalten der Flüssigkeit sehr oft wieder verschwindet (Stokvis[1]), Stein[2]), Salkowski[3]), de Jager[4]), Nichols[5]), H. Malfatti[6]) u. a.).

Die Erklärung dieser Erscheinung steht in inniger Beziehung mit der Frage der Umsetzung des gelösten in das ungelöste Phosphat im Urin überhaupt, daher wird hier näher darauf eingegangen.

Die Tatsache, dass Phosphate in der Wärme ausfallen und sich in der Kälte wieder lösen, wurde auf verschiedenem Wege zu erklären versucht. Für die Fälle, wo die in der Hitze aufgetretene Trübung nicht wieder verschwindet, fanden Stein, Nichols als einfachste Erklärung die Annahme, dass die Erdphosphate durch Kohlensäure in Lösung erhalten werden. In der Wärme werde diese ausgetrieben, was eine Verminderung der Acidität zur Folge habe, die wieder ein Ausfallen von Phosphaten nach sich ziehe. Nichols fand auch die Acidität nachträglich herabgesetzt.

Mit dieser Erklärung könnte man sich zufrieden geben, wenn man nicht oft Gelegenheit hätte, zu beobachten, dass sich die Trübung beim Erkalten wieder aufhellt. Das Austreiben der Kohlensäure kann hier nicht erklärend herangezogen werden.

Nach Ott[7]) erfolgt beim Erwärmen eine Änderung der chemischen Natur der phosphorsauren Erdalkalisalze. Er nimmt an, dass das leicht lösliche Monocalciumphosphat in der Wärme zu freier Phosphorsäure und zu schwerer löslichem Dicalciumphosphat, oder dass das Dicalcium- resp. Dimagnesiumphosphat zu unlöslichen Triphosphaten und zu Monophosphaten umgesetzt werde. Die entsprechende Formel wäre folgende:

$$CaH_4(PO_4)_2 = H_3PO_4 + CaHPO_4 \quad \text{und}$$
$$4\,CaHPO_4 = CaH_4(PO_4)_2 + Ca_3(PO_4)_2.$$

Diese Umsetzungsprozesse können möglicherweise im Harn eine Rolle spielen. Ihre Übertragung auf den gegebenen Fall erscheint unwahrscheinlich, weil die Umsetzung nicht reversibel gedacht werden kann. Überdies führt Nichols an, dass auf Grund der Formel die Reaktion des Harns nach dem Kochen eine Steigerung der Acidität zeigen müsste, was in Wirklichkeit nicht der Fall ist.

De Jager führt das in der Wärme auftretende Sediment auf die Anwesenheit von einfachsaurem Phosphat zurück. Nach ihm lässt sich der Niederschlag in jedem Harn hervorrufen, wenn man vorher Na_2HPO_4 zugesetzt hat. Der Niederschlag, der beim Kochen des Urins auftritt, ist ausschliesslich aus Mg- und Ca-Phosphaten zusammengesetzt. Magnesiumphosphat ist besser löslich als Calciumphosphat, daher findet man oft nur das letztere Salz im Niederschlag.

Malfatti gibt einen Versuch an, der leicht zu wiederholen ist und ein Licht auf diese eigentümliche Erscheinung wirft. Na_2HPO_4 wird in Wasser gelöst, so

[1]) Stokvis, Jahresber. d. Tierchem. 12. 194. 1882.
[2]) Stein, Arch. f. klin. Med. 18. 207. 1876.
[3]) Salkowski, Zeitschr. f. phys. Chem. 7. 119. 1882/83.
[4]) De Jager, Zeitschr. f. phys. Chem. 55. 481. 1908.
[5]) Nichols, New York med. Record. 52. 618. 1897. Ref. Schmidts Jahrb. S. 257. 1898.
[6]) H. Malfatti, Beitr. z. chem. Phys. u. Path. 8 472. 1906..
[7]) Ott, Zeitschr. f. phys. Chem. 10. 1. 1886.

Digitized by Google

dass die Lösung mit Phenolphthalein eben rot gefärbt wird. Wird diese Probe erwärmt, so tritt eine intensive Rotfärbung auf, die beim Erkalten wieder abblasst. Dieser Versuch mit reinem Wasser plus einem Tropfen Lauge angestellt, zeigt das Phänomen nicht. Dies spricht dafür, dass keine stärkere Ionisation des Phenolphthalein durch die Erwärmung stattgefunden hat, sondern dass die Alkalitätssteigerung in einer Veränderung des Phosphorsalzes selbst gelegen sein muss. Diese Veränderung geht in der Kälte wieder zurück, wodurch auch die Alkalität wieder abnimmt.

Es lässt sich nun wohl denken, dass in einer Flüssigkeit, die wie der Harn Kalksalze enthält, welche infolge eines geeigneten Verhältnisses von sauren und neutralen Phosphaten noch in Lösung gehalten werden, die Kalksalze ausfallen resp. wieder in Lösung gehen, je nachdem das Na_2HPO_4, dessen Anwesenheit vorausgesetzt werden muss, sich verändert, d. h. es handelt sich um ein mit der Temperatur (und der Konzentration) verschiebbares chemisches Gleichgewicht. Setzt man zu einem solchen Harn Spuren von Chlorcalcium oder von einfachsaurem Natriumphosphat zu, verändert man also dieses Gleichgewichtsverhältnis, so beobachtet man an Stelle der früheren Trübung eine Ausflockung beim Kochen und gleichzeitig, dass der Niederschlag sich nicht wieder löst.

Von manchen Ärzten wird die Ursache der Phosphaturie auch in den Darm verlegt, indem im Darm die Umarbeitung des Nahrungskalkes eine grosse Rolle spielt (Chiari)[1]. Für andere Fälle wird auch eine Störung der inneren Sekretion beschuldigt. P. F. Richter[2]) denkt an den Wegfall von Substanzen, die sonst eine Lösung der Kalksalze herbeiführen. Ähnliche Anschauungen vertritt auch Lämpe[3]).

Eigenschaften. Die Phosphorsäure des normalen Harns ist gebunden an Alkalien, an Kalk und Magnesia, in Spuren findet sich auch organische Phosphorsäure. Das Phosphatsediment setzt sich aus einfachsauren und normalen Phosphaten der alkalischen Erden zusammen. Diese finden sich als amorphe Massen oder krystallisiert vor.

Das amorphe Sediment ist meist weissgrau, milchig und macht in der Farbe oft den Eindruck von Eiter. Der Gedanke an eine Cystitis wird noch mehr gestärkt, da die Entleerung des trüben, dicken Harnes auch mit lebhaften Schmerzen verbunden sein kann. Mikroskopisch sieht man feine, regellos beisammen liegende Körnchen; sie sind im Durchschnitt grösser als die des Sedimentum lateritium und auch nicht gefärbt.

Von Krystallelementen kommen vor: 1. die des Trimagnesium-Phosphates, 2. des Ammonium-Magnesium-Phosphates, auch Tripelphosphat genannt und 3. des Dicalciumphosphates.

Die Krystalle der basisch phosphorsauren Magnesia, zum erstenmal von Robin und Verdeil[4]), später von Stein[5]) abgebildet und beschrieben, sind längliche, stark lichtbrechende rhom-

[1]) Chiari, Arch. f. exp. Path. Bd. 65. 1911.
[2]) P. F. Richter, Urologenkongress. Wien 1910.
[3]) Lämpe, Inaug.-Dissert. Jena 1910.
[4]) Robin und Verdeil zit. nach Stein.
[5]) Stein, Arch. f. klin. Med. 18. 207. 1876.

Digitized by Google

bische Tafeln, ziemlich schmal, wo nicht zwei mit den Längskanten zusammengelagert sind (s. Taf. II, Fig. 3 c). Die Ränder und Flächen sehen oft wie angefressen chagrinartig aus. Diese Veränderung beobachtet man auch an künstlich hergestellten Magnesiumphosphatkrystallen nach Zusatz einer Lösung von kohlensaurem Ammonium zu Harn.

Von den Formen des schwefelsauren Kalks unterscheiden sie sich durch ihre Anordnung, indem sie keine Rosetten bilden. Damit diese selten zu beobachtenden Krystalle sich ausbilden, muss der Harn alkalisch werden, ohne jedoch in ammoniakalische Gärung übergegangen zu sein.

1. Die Krystalle der normalen phosphorsauren Magnesia, zum erstenmal von Robin und Verdeil[1]), später von Stein abgebildet und beschrieben, sind längliche, stark lichtbrechende rhombische Tafeln, ziemlich schmal; wo sich nicht zwei mit den Längskanten berühren, sehen sie wie angefressen oder chagrinartig aus. Stein hat Magnesiumphosphatkrystalle im Harn bei Magenerweiterung und bei starkem Erbrechen saurer Massen beobachtet, Venables[2]) nach dem Gebrauch von kohlensaurer Magnesia und schwefelsaurem Natron.

2. Tritt ammoniakalische Gärung im Harn ein, so erscheinen die bekannten Sargdeckelformen der Tripelphosphat-Krystalle. Man findet diese auch bei schwachsaurer und amphoterer Reaktion, wenn der Harn konzentriert ist und genügend Ammoniumsalze enthält. Sie erreichen zuweilen beträchtliche Grösse, so dass sie als glitzernde Punkte makroskopisch sichtbar werden. Weiske[3]) fand bis 9 mm grosse Krystalle. Neben diesen rhombisch-prismatischen Formen trifft man zuweilen weniger regelmässig gebildete Krystalle von Tripelphosphat an, von denen einzelne seltenere Formen eine Ähnlichkeit mit einem Farnkrautwedel besitzen. Diese können künstlich aus normalem Harn durch Zufliessenlassen von Ammoniak unter ein Deckglaspräparat dargestellt werden. Phosphaturie bei alkalischer Reaktion des Harnes erwähnt Posner[4]) als häufige Begleiterscheinung bei entzündlichen Erkrankungen der Prostata.

Eine besondere Krystallform der phosphorsauren Ammon-Magnesia als Doppelbüschel von besonderer Grösse hat Richartz[5]) in einem alkalischen, durch Phosphatniederschläge getrübten Harn beobachtet.

3. Die Krystalle des Dicalcium-Phosphates sind keine allzu selten zu beobachtende Erscheinung. Es wurden mannigfaltige Formen beschrieben, teils Garben- und Fächerform, teils Rosetten, die sich aus spitz zulaufenden Prismen zusammensetzen. Die Reaktion des Harns

[1]) Robin und Verdeil zit. nach Stein.
[2]) Rob. Venables, Med. Times and Gaz. May. 1848.
[3]) H. Weiske, Ber. d. chem. Ges. **16**. 63. 1883.
[4]) Posner, Albu. Abhandl. **3**. Heft 7. 1912.
[5]) H. Richartz, Zentralbl. f. inn. Med. 1907. S. 153.

Digitized by Google

ist amphoter oder schwachsauer, kann auch schwachalkalisch sein (Mörner)[1]. Das Dicalcium-Phosphat löst sich schlecht in reinem Wasser (nach Mörner ca. 0,2 g krystallisiertes Salz in einem Liter Wasser), besser bei Anwesenheit von Neutralsalz. Im normalen Harn können bis 0,4 g des phosphorsauren Kalksalzes gelöst sein. Diese übersättigte Lösung erklärt sich aus der Anwesenheit von ClNa und andererseits von saurem Alkali-Phosphat. Daher ergibt sich als Voraussetzung für das Aussedimentieren des Dicalciumsalzes die Eigenschaft des Harns, nicht grössere Mengen Kochsalz zu enthalten. Nach Mörner[1]) lässt sich in jedem Harn das Ausfallen von Dicalcium-Phosphat demonstrieren, wenn man zu 100 ccm frischen, nicht alkalischen Harn 3 ccm Anilin und 20 ccm Alkohol (90 %) zusetzt. Wenn die Krystallbildung ausbleibt, so hilft Zusatz von $CaCl_2$. Neben Krystallen beobachtet man auch Schollen mit unregelmässigen Kanten, namentlich in der an der Harnoberfläche häufig sich bildenden Haut.

Die Phosphatniederschläge zeigen alle ein charakteristisches Merkmal, dass sie bei Zusatz von Essigsäure sich auflösen. Dadurch unterscheidet sich die Phosphattrübung, die man beim Kochen des Harns erhält, von der Eiweisstrübung beim Kochen eines albuminhaltigen Harnes. Die Reaktion ist im allgemeinen alkalisch oder amphoter, nicht sauer. In jedem normalen Harn lässt sich durch Zusatz von Alkalihydrat oder Sodalösung bis zur deutlich alkalischen Reaktion ein Phosphatniederschlag erzeugen. Mikrochemisch verhalten sich nach Stein die drei obengenannten krystallisierten Phosphatsalze einer 20%igen wässerigen Lösung von Ammoniumcarbonat gegenüber verschieden. Die Tripelphosphat-Krystalle bleiben ziemlich unverändert. Die glatten Krystallflächen werden höchstens etwas matt. Dagegen verändern sich die Magnesiumkrystalle sofort. Die Tafeln sehen oberflächlich wie angehaucht, die Ränder wie angefressen aus; Veränderungen, die auf eine beginnende Umwandlung des Salzes in Tripelphosphat beruhen. Nach 48 Stunden schiessen daneben zahlreiche kleine Tripelphosphat-Krystalle auf. Bei Verweilen des Dicalciumphosphates in der Flüssigkeit bemerkt man nach einigen Stunden das Auftreten von Häufchen kleiner eckiger Krystalle von Calciumcarbonat.

3. Oxalsaurer Kalk.

(Taf. III. Fig. I, Fig. 3.)

Vorkommen. Relativ häufig finden sich im Harnsediment vereinzelte Krystalle von oxalsaurem Kalk. Das Auftreten hat keine besondere pathognomische Bedeutung. Oxalsaurer Kalk wird auch von

[1]) Mörner, Zeitschr. f. phys. Chemie. 58. 440. 1909.

Digitized by Google

vollkommen gesunden Menschen ausgeschieden, auffallend reichlich nach stärkerem Teegenuss und, wie Lüthje beobachtet hat, bei Leuten während einer Salicyl-Therapie. Für bestimmte Erkrankungen ist es nicht charakteristisch. Das vermehrte Auftreten der Oxalatkrystalle lässt keinen Rückschluss auf die gesamte, im Harn ausgeschiedene Oxalsäure zu. Trotz chemisch nachgewiesener Vermehrung der oxalsauren Salze im Harn können mikroskopisch im Sediment die Oxalatkrystalle fehlen. Die Vorbedingungen für das Ausfallen derselben sind ausser in der Oxalsäurekonzentration noch in anderen Faktoren gelegen.

Für die Menge der ausgeschiedenen Oxalsäure sind neben dem Oxalsäuregehalt der Nahrung auch Vorgänge innerhalb des Körpers verantwortlich. Auch der hungernde Organismus scheidet geringe Mengen von Oxalsäure aus (Lüthje[1]), Klemperer und Tritschler[2])). Dementsprechend hat man der alimentären eine endogene Oxalsäure gegenübergestellt. Der grösste Teil der Oxalsäure bei Mensch und Tier stammt von der Pflanzennahrung. Hier handelt es sich um präformierte Oxalsäure, deren Ausscheidung im Harn zunächst von den Resorptionsverhältnissen abhängt. Volksstämme mit vorwiegender Pflanzennahrung zeigen sehr häufig die Erscheinung des Oxalatsediments im Harn und der Oxalatsteine (Burkitt)[3]). Andererseits dürfte auch Fleischnahrung von Einfluss sein. Als Oxalsäurebildner sind unter anderem die Gelatine (Lommel[4]), Stradomsky[5]), Mohr und Salomon[6])), Glycocoll und Kreatin (Klemperer und Tritschler), Nukleine (Lommel, Rosenquist[7])) erkannt worden.

Die Erscheinung der Oxalatkrystalle im frischen Sediment verdient namentlich mit Rücksicht auf die Möglichkeit der Bildung von Oxalatkonkrementen innerhalb der Harnwege eine Aufmerksamkeit.

Das Oxalsäuresediment besteht zumeist aus oxalsaurem Kalk, sehr selten wird das leichtlösliche Magnesiumsalz angetroffen. Das Calciumoxalat ist im Wasser nicht löslich. Seine Löslichkeit im Harn wird bedingt durch das saure phosphorsaure Natron. Stark saure Reaktion begünstigt die Lösung. Durch alle jene Vorgänge im Harn, die zu einer Aciditätsänderung desselben führen, kann ein Ausfallen von oxalsaurem Kalk erfolgen. So, wenn es zu einer Bildung von Uratsediment kommt und zu einer Zunahme der einfachsauren Phosphate auf Kosten der zwei-

---

1) Lüthje, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **74**. Heft 1 u. 2. 1902.
2) G. Klemperer und F. Tritschler, Zeitschr. f. klin. Med. **44**. 337. 1902.
3) Burkitt, Brit. med. Journ. 1909. April. Ref. Centralbl. f. inn. Med. S. 824. 1909.
4) Lommel, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **63**. 599. 1899.
5) N. Stradomsky, Virchows Arch. **163**. 404. 1901.
6) L. Mohr und H. Salomon, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 1901. **70**. 486.
7) Rosenquist, nach O. Minkowski in Leydens Handb. d. Ernährungstherapie u. Diätetik. 2. Aufl. S. 307. 1904.

Digitized by Google

fachsauren. Man findet dann im Uratsediment oft Krystalle von oxalsaurem Kalk. Auch beim Abkühlen des Harns kann dieselbe Erscheinung eintreten.

Die Löslichkeit der Oxalatkrystalle soll ferner durch die Anwesenheit von Magnesiasalzen beeinflusst werden (Rosin[1]), Klemperer und Tritschler). Die letzteren Autoren fanden als günstiges Verhältnis im Harn, damit oxalsaurer Kalk in Lösung bleibt, ein Verhältnis von $CaO:MgO = 0{,}8$ bis $1:1{,}2$. Von Magnesia sollen mehr als 20 mg auf 100 ccm Harn entfallen. Damit stimmt die Erfahrungstatsache überein, dass langdauernde Gaben von Magnesiasalzen die Oxalatkrystalle zum Verschwinden bringen.

Eigenschaften. Der oxalsaure Kalk erscheint im Harn dimorph. Man kennt das Auftreten von Krystallen, die dem tetragonalen System angehören. Es sind zumeist Oktaeder, deren Hauptachse meist kürzer ist als die Nebenachsen, so dass bei Besichtigung eines solchen Krystalles von oben die Oktaederkanten deutlich wahrgenommen werden. Man hat das Bild eines Rechteckes mit zwei sich kreuzenden Diagonalen vor sich, das an ein Briefkuvert erinnert. Diese Krystallform ist ungemein charakteristisch, so dass eine Verwechslung kaum möglich ist. Es finden sich diese Krystalle in grösseren und kleineren Exemplaren. Wenn die Oxalatkrystalle aus irgend einem Grunde in grösseren Mengen ausgeschieden werden — es wird dies in jenen Fällen beobachtet werden, wo die Vorbedingungen zu Steinbildung vorhanden sind —, so sieht man gewöhnlich nur kleine Krystallformen. Neben Briefkuvertformen machen sich hier sehr oft längere oder kürzere Prismen mit pyramidalen Endflächen bemerkbar (Formen, wie sie Feser und Friedberger[2]) in Pferdeharnen aufgefunden haben) oder Doppelpyramiden mit mehr oder minder regelmässigem Aufbau.

Die dem tetragonalen System zugehörigen Krystalle schliessen drei Moleküle Krystallwasser ein. Sie unterscheiden sich dadurch von der zweiten Form, die ein Molekül Wasser enthält und dem monoklinen System angehört. Diese krystallisieren in Gestalt von Plättchen. Fürbringer[3]) unterscheidet zwischen den Krystallen und deren Derivaten, die alle dem tetragonalen System angehören, einerseits, und den sphäroiden Formen andererseits. Die letzteren stellen platte, ovale oder kreisrunde Scheiben vor, die im Centrum grubenförmige Vertiefungen besitzen und von der Seite betrachtet Hantel-, Bisquit-, Sanduhrformen ähnlich sehen. Die Flächen dieser Gebilde zeigen meist eine feine,

---

[1]) Rosin, Therap. d. Gegenwart. N. F. 4. 303. 1901.

[2]) Feser und Friedberger, Malys Jahresber. f. Tierchemie. S. 231. 1874.

[3]) P. Fürbringer, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 1875. **16.** 494 und **18.** 143. 1876.

Digitized by Google

radiäre Streifung; sie sind ebenfalls durchsichtig, lichtbrechend, meist etwas gelblich gefärbt. Zur Bildung dieser Krystallform kommt es, wenn der Ausfall der Oxalate aus konzentrierten wasserarmen Harnen erfolgt, z. B. bei heftigen Diarrhöen, bei Nephritis, bei Oxalsäurevergiftung.

Bei Icterus mit Gallenfarbstoffen im Harn sind die Krystalle leuchtend grünlich-gelb gefärbt (Abb. Taf. III, Fig. 3).

Das krystallinische Oxalatsediment löst sich in organischen Säuren wie Essigsäure, Oxalsäure sehr schlecht, sehr gut dagegen in Mineralsäuren (Salzsäure). Die Krystalle sind unlöslich in Wasser, Ammoniak und Alkohol, Äther.

Nachweis. Mit Ausnahme der Briefkuvertformen können die übrigen Krystallformen Anlass zu Verwechslungen geben. Gegenüber Verwechslungen mit Krystallen von Tripelphosphat schützt eine Probe, wobei Essigsäure zugesetzt wird. Letztere Krystalle lösen sich dann sofort. Die Hantelformen der Harnsäurekrystalle sind in Salzsäure nicht löslich und geben überdies die Murexidprobe, die des kohlensauren Kalks lösen sich in Essigsäure unter Gasentwicklung. Bei Behandlung der Oxalatkrystalle mit Schwefelsäure fallen Gipskrystalle aus, bei Behandlung mit Salzsäure bilden sich nachträglich grosse rhombische Tafeln, ein Doppelsalz von Chlorcalcium und oxalsaurem Kalk.

4. Schwefelsaurer Kalk.

(Tafel IV. Fig. 3b.)

Vorkommen. Schwefelsaurer Kalk bildet gelöst einen normalen Bestandteil des Harns. Allerdings findet er sich gewöhnlich in sehr geringen Mengen vor. Die Beobachtung, dass in den Rückständen nach Eindampfen von Harnen sich häufig Gipskrystalle vorfinden, kann nicht als Beweis dafür angesehen werden, dass in den betreffenden Fällen schwefelsaurer Kalk vorgebildet war. Vielmehr ist anzunehmen, dass sich dieses Salz dort sekundär durch Umsetzung aus anderen Verbindungen gebildet hat. Dagegen hat Fürbringer[1]) mit einwandfreier Methode und zwar mit Vermeidung von Hitze und von Eingriffen, die zur Bildung von Calciumsulfat hätten führen können, den Nachweis erbracht, dass in den meisten Harnen schwefelsaurer Kalk vorhanden ist.

Zum spontanen Ausfall von Gipskrystallen im frischen Harn kommt es hingegen selten. Es existieren in der Literatur nur sehr wenige Fälle mit dem Befund von typischen Krystallen im Harnsediment. Es ist nicht ausgeschlossen, dass bei darauf gerichteter Aufmerksamkeit

[1]) P. Fürbringer, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 20. 521. 1877.

Digitized by Google

sich der Befund öfters wird erheben lassen. Feser und Friedberger[1]) haben das Sediment bei kranken, mit Sulfaten behandelten Pferden, nicht dagegen bei ebenso gefütterten normalen Tieren beobachtet. Bei Menschen sind Gipskrystalle auch im normalen Harn gefunden worden (Valentiner)[2]). In Krankheitsfällen war eine Abhängigkeit von bestimmten Erkrankungen oder von einer bestimmten Diät nicht nachzuweisen.

Bildung. Die Vorbedingungen, die zum Auskrystallisieren des Calciumsulfates führen, sind nicht völlig aufgeklärt. Es sind allerdings Schwefelsäure und Kalk in solchen Harnen reichlich vorhanden (Fürbringer, Weintraud)[3]), aber es steht fest, dass die Ursache des Sedimentausfalles weder in einer absoluten Vermehrung der Schwefelsäure- noch der Kalkwerte zu suchen ist. Die Krystallausscheidung wechselt bei ein und demselben Fall oft im Laufe von Tagen. Schwefelsäure- und Kalkbestimmungen im sedimenthaltigen und sedimentfreien Harn haben zu dem Resultat geführt, dass die absoluten Mengen in den einzelnen Perioden nicht wesentlich verschieden waren. Auch die Konzentration an diesen Substanzen dürfte nach den Erfahrungen Fürbringers keine Rolle spielen. Der Chlor- und Phosphorgehalt zeigt ebenfalls keine Besonderheiten. Dagegen sind die Alkalibasen auffallend vermindert, sowohl absolut als auch relativ; relativ im Verhältnis zum Chlor und zur Phosphorsäure. Es reichen die Werte der Summe von Natron und Kali nicht aus, um neben dem Chlor und der Phosphorsäure auch die vorhandene Schwefelsäure zu sättigen. In diesem Missverhältnis soll die vermehrte Salzbildung von schwefelsaurem Kalk und dessen Ausfall seine Erklärung finden (Fürbringer, Weintraud, Lapinski)[4]). Infolge der Armut an Alkali ist der Gipssedimentharn in der Regel stark sauer, der auf die zweifachsauren Salze entfallende Anteil der Phosphorsäure gross.

Eigenschaften. Die Gipskrystalle fallen zum Teil schon in den Harnwegen aus und erscheinen im frischgelassenen Harn, oder sie krystallisieren bald nach der Entleerung mit dem Abkühlen des Urins aus. Man findet in solchen Fällen einen voluminösen weissen Bodensatz, fast ausschliesslich nur aus Gipskrystallen bestehend. Die Menge desselben betrug in einigen untersuchten Fällen nach dem Reinigen und Glühen 0,13 g bis 0,49 g pro die.

Die Grundform des schwefelsauren Kalks ist das monokline Prisma. Die Krystalle sind farblos und erscheinen als einfach konturierte Nadeln,

[1]) Feser und Friedberger, Jahrb. f. Tierchemie. S. 228. 1874.
[2]) Valentiner, Zentralbl. f. med. Wissensch. 1. 913. 1863.
[3]) Weintraud, Charité-Annalen. 20. 203. 1895.
[4]) St. Lapinski, Wien. klin. Wochenschr. 19. 45. 1906.

Digitized by Google

oder als langgestreckte schmale Tafeln mit schräg abschneidenden Enden und in mannigfaltiger Anordnung als Garben, Büschel, Rosetten, Drusen (s. Taf. IV, Fig. 3 b).

Sie sind unlöslich in Ammoniak, Alkohol, Schwefelsäure, Essigsäure. Von Salzsäure werden die Krystalle nur schwach arrodiert, stärker von Salpetersäure. Im Wasser sind sie schwer löslich.

Nachweis. Die Gipskrystalle des Harns haben eine gewisse Ähnlichkeit mit den Prismen der Hippursäure, mit den Büscheln des Tyrosin, mit den Nadeln und Rosetten des Dicalciumphosphates. Von den letzteren unterscheiden sie sich durch ihre Unlöslichkeit in Essigsäure, von der Hippursäure durch ihre Unlöslichkeit in Alkohol. Tyrosin löst sich in Ammoniak, Gips nicht. Bringt man das Gipssediment auf ein Filter, wäscht zunächst mit absolutem Alkohol und nachträglich mit Wasser so lange, bis Chlor und Phosphorsäure nicht mehr nachweisbar sind, so lässt sich bis zum Verschwinden des Sedimentes auf dem Filter in dem Waschwasser Schwefelsäure mit Chlorbaryum nachweisen; der hierbei entstehende Niederschlag ist in Salzsäure und in Salpetersäure unlöslich. Ein Teil des Waschwassers mit Ammoniumoxalat versetzt scheidet einen wolkig feinkörnigen Niederschlag von oxalsaurem Kalk aus; derselbe ist in Essigsäure unlöslich, in Salz- und Salpetersäure löslich. Beim Glühen der Gipskrystalle auf Kohle mit Säurezusatz ist Schwefelcalcium nachweisbar.

5. Kohlensaurer Kalk.

(Taf. III. Fig. 5.)

Vorkommen. Kohlensaurer Kalk findet sich im Harnsediment des Menschen nicht sehr häufig. Bei Pflanzenfressern ist er ein normaler Bestandteil. Eine gute Zusammenstellung der nicht organisierten Sedimente im Harne gesunder Haustiere ist die von Zirker[1]).

Bildung. Er scheidet sich meist in alkalischem Harn beim Stehen desselben aus, indem Kohlensäure entweicht: aus dem in Lösung gewesenen doppelkohlensauren Kalk wird das unlösliche Calciumcarbonat. Nach Huppert besteht auch die Möglichkeit der Bildung aus dem in Wasser leicht löslichen carbaminsauren Kalk nach Zersetzung des letzteren.

Zuweilen wurde ein Calciumcarbonat-Sediment auch in schwachsaurem Harn beobachtet.

Eigenschaften. Der kohlensaure Kalk erscheint zumeist in Gemeinschaft mit den Phosphaten, dem Calcium- und dem Tripelphosphat, in amorphem Zustand als grosskörnige Massen. Krystallinisch tritt er

[1]) Zirker, Inaug.-Dissert. Giessen 1910.

Digitized by Google

in Form schwachglänzender, farbloser Kugeln auf, die meist paarweise als hantelförmige Aggregate angetroffen werden (Dumbbells).

Nachweis. Von den ähnlichen Gebilden des sauren harnsauren Ammoniaks lassen sich die kohlensauren Kalkkrystalle gelegentlich dadurch unterscheiden, dass die ersteren grösser und gefärbt sind; sicherer ist die Entscheidung auf mikrochemischem Wege zu fällen: kohlensaurer Kalk löst sich bei Zusatz von Essigsäure unter Gasentwickelung, saures harnsaures Ammoniak löst sich beim blossen Erwärmen. Oxalsaurer Kalk, der auch bisweilen in Hantelform aussedimentiert, ist in Essigsäure nicht löslich.

6. Hippursäure.

(Taf. IV. Fig. 3 a,)

Vorkommen. Hippursäure ist in gelöstem Zustand ein normaler Harnbestandteil des Menschen. Nach Verfütterung von Benzoesäure, sowie anderer aromatischer Säuren, ebenso nach Genuss benzoesäurehaltiger Früchte, wie Preisel- und Heidelbeeren, kommt es zu einer vermehrten Ausscheidung. Ein Aussedimentieren von Hippursäurekrystallen beobachtet man jedoch nur äusserst selten. Bei einzelnen Fällen von Leberkrankheiten, sowie bei Erkrankungen in den Tropen sind solche beschrieben worden.

Eigenschaft. Es handelt sich um wohlausgebildete Prismen oder Tafeln, dem rhombischen System angehörend (s. Taf. IV, Fig. 3 a). Vor Verwechslung mit Harnsäurekrystallen oder mit Gipskrystallen schützt die leichte Löslichkeit der Hippursäure in Wasser, die Löslichkeit in Essigäther und Alkohol. Die Murexidprobe fällt negativ aus. Hippursäurekrystalle werden durch Essigsäure und Salzsäure nicht verändert. In Ammoniak lösen sie sich.

7. Cystin.

(Taf. IV. Fig. 1.)

Vorkommen und Bildung. Die Cystinausscheidung in krystallisiertem Zustand ist eine im menschlichen Harn des öfteren beobachtete Erscheinung. Die Cystinkrystalle werden entweder mit dem frischen Harn entleert, wobei der Harn trüb gelassen wird; oder es bildet sich erst beim Stehen eine Trübung, die durch den Ausfall von Cystin bedingt ist. Geht das Auskrystallisieren des Cystins schon in der Blase vor sich, dann werden neben den isolierten Krystallformen auch grössere und kleinere Konkrementbildungen, aus reinem Cystin bestehend, mit herausgeschwemmt.

Digitized by Google

Es handelt sich um den Ausdruck einer Störung im Proteinstoffwechsel, die chronisch und oft familiär auftritt, und die in jedem Lebensalter beobachtet wurde.

Der Harn zeigt saure oder alkalische Reaktion; ist er sauer, so kann neben den hexagonalen Cystintafeln im Sediment Harnsäure und oxalsaurer Kalk auftreten. Neben dem Cystinsediment bleibt Cystin in Lösung, aus der die Ausscheidung durch Zusatz von Essigsäure vermehrt werden kann[1]).

Der Harn mit grösseren Mengen Cystin ist gewöhnlich hellgelb gefärbt und neigt zu alkalischer Zersetzung. In solchen Fällen werden die Cystinkrystalle begleitet von einem reichlichen Sediment von Erdphosphaten.

Eigenschaften. Cystin krystallisiert ziemlich charakteristisch; es sind dünne, sechsseitige, mehr oder weniger regelmässige Tafeln, die keinen Farbstoff aufnehmen (s. Taf. IV, Fig. 1). Die Tafeln der Harnsäure sind meist gelblich gefärbt und viel dicker. Zur mikroskopischen Differenzierung ist die Löslichkeit der Cystinkrystalle in Ammoniak verwendbar, woraus das Cystin beim Verdunsten des Ammoniak oder durch Überschuss von Essigsäure wieder in schönen Tafeln auskrystallisiert. Das Cystinsediment löst sich auch im Gegensatz zu den Harnsäuretafeln in Salzsäure. Cystin ist in Wasser, in Äther und Alkohol nicht löslich.

Auf ein sehr anschauliches Verfahren der mikrochemischen Erkennung des Cystins hat J. Mauthner[2]) hingewiesen. Im Prinzip handelt es sich um die Darstellung eines charakteristischen, krystallinischen Kupfersalzes. Zu dem Zweck werden die gut gewaschenen Cystinkrystalle unter dem Deckglas mit einem Tropfen einer Barfoedschen Kupferacetatlösung (siehe auf S. 619) versetzt und im Laufe der nächsten Minuten die eigentümliche Reaktion beobachtet. Die scharfen Kanten der Cystinkrystalle werden unregelmässig, erscheinen wie angefressen, ein bläulicher Saum wird sichtbar, und schliesslich schiessen gerade, starre Nadeln zu grossen schönen Büscheln gruppiert hervor.

8. Xanthin.

Vorkommen und Eigenschaften. In der älteren Literatur finden sich Angaben, denen zufolge Xanthinkrystalle im Harnsediment beobachtet wurden. Die Mitteilungen heben das Gemeinsame hervor, dass diese Krystalle gelegentlich aufgetreten und bei der nächsten Untersuchung schon verschwunden waren. An ihrer Stelle wurden dann nur mehr Harnsäurekrystalle gesehen.

---

[1]) Loewy und Neuberg, Zeitschr. f. phys. Chem. 43. 338. 1904.
[2]) J. Mauthner, Zeitschr. f. Biol. 42. 176. 1901.

Digitized by Google

Weiske[1]), der im Harn eines leukämischen Schafbockes ein aus Xanthin bestehendes Sediment beschrieb, fand dasselbe nach vier- bis fünftägigem Stehen in Harnsäure verwandelt. Douglas Maglacan[2]) hatte in einem Fall von Hysterie ein Sediment beobachtet, welches aus Erdphosphaten und Xanthin bestanden haben soll. Ähnlich fand Bence Jones im Harn eines $9^1/_2$ jährigen Knaben mit den Erscheinungen von Nierensteinkolik und Cottereau[3]) in einem anderen Falle Xanthin im Sediment. Die im Harn primär auftretenden Krystalle wurden von Bence Jones[4]) wetzsteinähnlich und nach dem Umkrystallisieren aus einer salzsauren Lösung als hexagonale Tafeln und schmale Stäbchen gezeichnet. Maclagan beschrieb die Krystalle als breite, braungelbe durchsichtige Blätter mit scharfen Winkeln.

Nachweis. Zur Identifizierung wurden die Löslichkeitsverhältnisse herangezogen, namentlich die Löslichkeit in Mineralsäuren, und ausserdem die sogenannte Xanthinreaktion mit Salpetersäure. Die salpetersaure Lösung der Xanthinkrystalle hinterlässt beim Abdampfen einen gelben Fleck. Der gelbe Rückstand löst sich in Natronlauge zu orangegelber Farbe, die beim weiteren Abdampfen auf dem Wasserbad in rot bis purpurrot umschlägt.

Aus jüngerer Zeit findet sich keine derartige Angabe mit dem Befund von Xanthinkrystallen im Harn. Wir wissen, dass die Xanthinbasen in geringen Mengen im Harn gelöst vorkommen und dass sie unter Umständen darin vermehrt sein können. Aus Harnsteinen wurde gelegentlich Xanthin isoliert.

9. Leucin und Tyrosin.

(Tafel IV. Fig. 1.)

Vorkommen und Bildung. Auf diese beiden Aminosäuren ist man zuerst bei der Untersuchung des Harnsedimentes Leberkranker aufmerksam geworden.

Im Verlaufe von akuten Phosphorvergiftungen, von schweren Infektionserkrankungen, ausserdem bei Fällen von Cystinurie wurde im Harn Leucin und Tyrosin oft in grösserer Menge gelöst nachgewiesen, zur Sedimentbildung kam es jedoch selten (H. Moreigne[5]), Riess[6]), Abderhalden und Schittenhelm[7])).

[1]) H. Weiske, Zeitschr. f. Biol. 11. 254. 1875.
[2]) Duoglas Maglacan, Canstatts Jahresber. S. 49. 1851.
[3]) Cottereau, Canstatts Jahresber. S. 49. 1851.
[4]) Bence Jones, Chem. Zentralbl. 847. 1868.
[5]) H. Moreigne, Compt. rend. soc. biol. 50. 1097—1099.
[6]) Riess, Realencyklopädie von Eulenburg. 3. (Leberatrophie.)
[7]) Abderhalden u. Schittenhelm, Zeitschr. f. phys. Chemie. 45. 468. 1905.

Digitized by Google

Frerich und Städeler[1]) beobachteten in dem Harn einer an akuter gelber Leberatrophie leidenden Frau, dass nach kurzem Stehen sich ein grünliches-gelbes Sediment absetzte. Dasselbe war krystallinisch und es konnte in demselben Leucin und Tyrosin durch die Analyse sichergestellt werden.

Greco[2]) sah im Harn Leucinkrystalle bei zwei Fällen von Lebercirrhose.

Thom. Kirkbride jun.[3]) berichtet über den mikroskopischen Befund von Leucinkugeln, sowie von Tyrosinkrystalldrusen bei einem 18 jährigen Mädchen mit Rotlauf und in einem Falle von Osteomalacie.

Moreigne sah in einem Harn, der reichlich Cystinkrystalle und ausserdem Krystalle von Tyrosin im Sediment enthielt, die letzteren durch die Cystintafeln verdeckt, so dass eine mikroskopische Diagnose derselben unmöglich war. Nach Zusatz eines Tropfens Salzsäure konnte unter dem Mikroskop verfolgt werden, wie sich das Cystin löste, während das Tyrosin als Doppelbüschel oder Sterne von feinsten Nadeln zum Vorschein kam.

Es handelt sich in allen diesen Fällen um Abweichungen von dem normalen Ablauf des Eiweiss- und speziell des Aminosäurenstoffwechsels.

Schöner und reichlicher als im spontanen Sediment werden die Leucin- und Tyrosinkrystalle zur Anschauung gebracht, wenn der Harn vorher auf einer Glasplatte etwas abgedunstet wurde.

Die Tyrosinkrystalle scheiden sich früher aus als die Leucinkugeln, weil sie im Wasser schwerer löslich und weil sie reichlicher vorhanden sind.

Eigenschaften. Leucin bildet je nach dem Grade der Verunreinigung beim Ausfall verschieden geformte Gebilde. Im Harnsediment wird gewöhnlich die Kugelform, seltener die von unregelmässigen Knollen beobachtet. Die Leucinkugeln sind gelblich bis braun gefärbt, zeigen eine konzentrische, oft auch eine radiäre Schichtung und erscheinen dann als radiär gestreifte Kugeln, an denen oft noch ein Wimpernsaum sichtbar ist (s. Taf. IV, Fig. 1). Sie finden sich zuweilen in Drusen angeordnet. Nicht zu verwechseln mit diesen Kugelformationen, die zuweilen nur wenig gefärbt sind, sind die Fettkugeln, denen die eigenartige Schichtung fehlt, deren Rand stark lichtbrechend ist, und die im Gegensatz zu den Leucinkugeln auf Zusatz von Äther sofort verschwinden. Das häufig zu beobachtende saure harnsaure Ammonium bildet kleinere Kugeln, denen ebenfalls die Streifung fehlt und die auf Salzsäurezusatz sich in Harnsäurekrystalle umsetzen. Die Leucin-

[1]) Frerich und Städeler, Arch. f. Anat. u. Phys. S. 47. 1856.
[2]) Greco, Klin. med. ital. 38. 230. 1899.
[3]) Kirkbride, Zentralbl. f. inn. Med. 18. 1057. 1897.

Digitized by Google

krystalle sind in Äther nicht, in Alkohol schlecht löslich; reines Leucin löst sich in kaltem Wasser nur sehr wenig, sehr gut in Säuren und Alkalien.

Tyrosin ist mikroskopisch charakterisiert durch feinste zu Doppelbüscheln, seltener zu Sternen angeordnete Nadeln, die einen zarten Seidenglanz zeigen. Die Tyrosinbüschel sind durch eingelagertes Pigment oft gelblich bis bräunlich gefäbt (Taf. IV, Fig. 1). Ähnliche, wenn auch nicht so zarte Büschelformen können die Krystalle der Harnsäure und des neutralen phosphorsauren Kalkes bilden. Die Reaktionen zur Differenzierung von diesen Körpern sind gelegentlich der Beschreibung derselben hervorgehoben.

Die Tyrosinkrystalle sind nur in heissem Wasser löslich und unlöslich in Alkohol und Äther, von Säuren und Alkalihydraten werden sie leicht gelöst; werden einige Krystalle in heissem Wasser gelöst und nach Zusatz einiger Tropfen von Millonschem Reagens erwärmt, so färbt sich die Flüssigkeit rosa bis rot.

10. Heteroalbumose.

Es sind durch Kühne[1]) und durch Matthes[2]) Fälle bekannt geworden, aus deren Harn beim Stehen desselben ein amorphes Sediment ausfiel, das gelöst die gewöhnlichen Eiweissreaktionen gab, und dessen Koagulationstemperatur und andere allgemeine Eigenschaften auf die Zugehörigkeit zu der Gruppe der Heteroalbumosen schliessen liessen.

Eine vollständige Übereinstimmung dieses Eiweisskörpers mit der Verdauungsheteroalbumose fehlte jedoch. Matthes gab ihm wegen des von ihm nachgewiesenen Phosphorgehaltes die Bezeichnung Nukleoalbumose. Ein einziges Mal wurde dieser Körper in krystallisiertem Zustand im Harnsediment gefunden (Huppert)[3]). Es waren kärgliche Aggregate von Stecknadelkopfgrösse, unlöslich in kaltem und heissem Wasser, unlöslich in Alkohol, löslich in verdünnten Neutralsalzlösungen, ferner in Säuren und in Lauge. Aus der Lösung wurde der Körper durch Salpetersäure sowie durch Essigsäure-Ferrocyankali gefällt und ging beim Erhitzen der Proben wieder in Lösung. Der Eiweisskörper fand sich bisher nur bei Männern entweder mit Knochenerweichung (Kühne, Matthes) oder ohne sonstige Erkrankung (Huppert).

---

[1]) W. Kühne, Zeitschr. f. Biol. 1883. **19**. 209; **20**. 40. 1884.
[2]) M. Matthes, Verhandl. d. 14. Kongr. f. inn. Med. S. 476. 1896.
[3]) Huppert, Zeitschr. f. phys. Chem. **22**. 501. 1897.

Digitized by Google

11. Cholesterin.

(Tafel IV. Fig. 2.)

Vorkommen. Cholesterin ist bekanntlich ein chemischer Bestandteil der Stromata der roten Blutkörperchen, ferner der Leukocyten und der Epithelien. Es kommt nach Zerfall dieser Zellelemente zur fettigen Entartung und zum Freiwerden von Cholesterin. In nachweisbaren Mengen wurde Cholesterin im Harn, und zwar in Lösung, erst bei ausgedehntem Zellzerfall und bei Chylurie beobachtet (Langgaard[1]), Beneke[2]), Krusenstern[3]), Eggel[4]), Guareschi[5]).

Sehr selten wurde das Cholesterin in krystallisiertem Zustand im Sediment gefunden. Es handelte sich fast durchwegs um Fälle von Harnstauung bei bestehender Entzündung der Harnwege, wie die in grosser Menge aufgefundenen roten Blutzellen und die Eiterkörperchen im Harn bewiesen. So fand v. Jaksch[6]) Cholesterintafeln bei Tabes mit Cystitis, Glinski[7]) bei Nierensteinen, Wildbolz[8]) bei spontaner Entleerung eines grossen, jahrelang geschlossen gewesenen Hydronephrosensackes. Nach Entleerung dieses Harnes bildete sich an der Oberfläche eine feine, schillernde Haut, aus Cholesterinkrystallen bestehend; im Sediment fand sich eine grosse Menge von Krystallen. Ausserdem ist Cholesterin ein häufiger Bestandteil von Harnsteinen.

Eigenschaften. Cholesterin krystallisiert in den bekannten rhombischen Tafeln mit rechtwinklig abgeschnittenen Ecken und der oft treppenartigen Anlagerung der einzelnen Krystalle. Die Krystalle sind gut löslich in Äther, Benzol, Chloroform, in warmem Alkohol. Aus dem letzteren umkrystallisiert, erscheint das Cholesterin in grossen Tafeln. Zugesetzte Schwefelsäure schmilzt die Krystalle ein, wobei sich die Ränder carminrot färben. Ein Tropfen wässeriger Jodlösung zugefügt, bewirkt einen Farbenumschlag ins Violette. Löst man einige Krystalle in Chloroform und setzt ein Paar Tropfen entsprechend verdünnter ($2H_2SO_3$ $1H_2O$) Schwefelsäure zu, so beobachtet man einen Farbenwechsel von Rot über Purpurrot bis zu Blau und Grün (Salkowskische Reaktion). (Bezüglich der übrigen Cholesterinproben siehe Kapitel „Cholesterin".)

---

[1]) Langgaard, Virchows Arch. **76**. 545. 1879.
[2]) Beneke, zit. bei Langaard.
[3]) Krusenstern, Virchows Arch. **65**. 410. 1875.
[4]) Eggel, Arch. f. klin. Med. 4.
[5]) Guareschi, Jahresber. f. Tierchemie. **24**. 689. 1894.
[6]) v. Jaksch, Klin. Diagn. 5. Aufl. 376.
[7]) Glinski, Ref. Jahresber. f. Tierchemie. **23**. 584. 1893.
[8]) Wildbolz, Korrespondenzbl. d. Schweizer Ärzte. **34**. 6. 1904.

Digitized by Google

12. Fett, Fettsäurenadeln und „Lipoide".

Vorkommen und Bildung. Fett findet sich im Harn entweder eingeschlossen in zelligen Elementen wie Leucocyten und Epithelien, oder Harncylindern aufgelagert, oder frei in Form mikroskopischer Tröpfchen, die bei grösserem Fettgehalt zu makroskopisch sichtbaren Fetttropfen konfluieren. Zuweilen wurden ausgedehnte, auf der Oberfläche des Harns schwimmende Fettaugen beobachtet. Ausserdem kommt Fett bei einer bestimmten Veränderung des Harns, die die Bezeichnung Chylurie erhalten hat und neben dem Fett durch Eiweissgehalt charakterisiert ist, in einer haltbaren Emulsion vor. In diesen Fällen sieht der Harn vollständig milchig getrübt aus und klärt sich erst nach Schütteln desselben mit alkoholfreiem Äther.

Die Fetttröpfchen nehmen ihren Ursprung zum Teil aus fettig degenerierten Zellen, zum Teil sollen sie auch direkt aus dem Blut resp. dem Nahrungsfett stammen (Winternitz[1]), Rossmann[2]), Schlossmann[3]) u. a.). Namentlich unter den Verhältnissen chronisch parenchymatöser nephritischer Prozesse soll die Niere fettdurchlässig werden und der Verlust relativ hohe Grade erreichen.

Nach dem Entleeren und Abkühlen des Harns werden die Fetttropfen bisweilen getrübt durch das Auftreten weisser Schüppchen, die im mikroskopischen Bild aus Krystalldrusen bestehen, die ihrerseits sich aus dichtstehenden, feinsten, leichtgekrümmten Nadeln zusammensetzen (Ebstein)[4]). v. Jaksch[5]) fand wiederholt nadelförmige Krystalle in Sternform angeordnet, die den Tyrosinkrystallen sehr ähnlich waren, und den Lösungsverhältnissen nach wahrscheinlich Kalk- und Magnesiaseifen der höheren Fettsäuren vorstellten.

Man findet Fett im Harn bei Erkrankungen mit fettiger Entartung im harnbildenden und harnleitenden Apparat, so bei Nephritis, Pyelonephritis, Cystitis, bei Kachexien, bei Phosphorintoxikationen (von Jaksch[6]), Schütz[7]), Ermann[8])), ausserdem wird Fett als Emulsion feinster Tröpfchen bei der tropischen parasitären und bei der heimischen Form der Chylurie angetroffen. Cohn[9]) findet Fettharn als klinisches Frühsymptom des Hypernephroms. Es wurde auch eine medikamentäre

---

1) Winternitz, Sitzungsber. d. 21. Kongr. f. inn. Med. 1904.
2) Rossmann, Ref. Zentralbl. f. d. med. Wissensch. **19**. 567. 1881.
3) Schlossmann, Zentralbl. f. inn. Med. **16**. 189. 1895.
4) Ebstein, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 1879.
5) v. Jaksch, Klin. Diagnostik. 5. Aufl. 1901. S. 373.
6) v. Jaksch, Nothnagels Handb. I. Vergiftungen. 1892.
7) Schütz, Prag. med. Wochenschr. 1882. S. 322.
8) Ermann, Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. Neue Folge. **23**. Heft 1.
9) Cohn, Zeitschr. f. Urologie **6**. 202. 1912.

Digitized by Google

Form der Lipurie beobachtet. So sah Rossmann[1]) bei Hunden, Katzen und Kaninchen nach kleinen Dosen einer Ölemulsion, die in die Bauchhöhle oder vorsichtig ins Blut eingeführt wurde, Übergang von Fetttröpfchen in den Harn, Schlossmann[2]) beobachtete bei einem $1^1/_2$ jährigen Kind einen stark milchig getrübten Harn mit einer grossen Menge in kleinsten Tröpfchen angeordneten Fettes nach Darreichen von drei Löffel eines Gemisches von Ol. ricini und Ol. olivarum.

Nachweis. Die Fetttröpfchen sind mikroskopisch an dem starken Lichtbrechungsvermögen und an gewissen Färbungs- und Lösungsreaktionen zu erkennen. Mit Sudan färben sich die Fetttropfen leuchtend scharlachrot, mit einer 1 %igen Osmiumsäurelösung tiefschwarz. In Äther, Chloroform, Benzol sind sie gut löslich. Auf Papier gebracht,

Fig. 50.

hinterlassen sie einen Fettfleck. Mit fetthaltigem Harn, den man vorher in einem Reagenzgläschen eindampft, erhält man die Acroleinreaktion, d. i. Entwicklung von Dämpfen mit dem bekannten stechenden Geruch beim Erhitzen mit oder ohne Kaliumbisulfat.

In der Zusammensetzung der im Harnsediment beobachteten Fettkügelchen spielen neben dem gewöhnlichen Fett, den Triglyceriden, nach jüngsten Untersuchungen auch gewisse Fettstoffe eine Rolle, die unter der Bezeichnung Lipoide zusammengefasst wurden. Im Gegensatz zu den gewöhnlichen Fetttropfen zeigen nämlich einzelne Fetttröpfchen, im Polarisationsmikroskop betrachtet, ein anisotropes Verhalten. Man beobachtet im Dunkelfeld helleuchtende Kügelchen mit einem dunklen Achsenkreuz (Kayserling). Diese Doppelbrechungs-

[1]) Rossmann, Zentralbl. f. d. med. Wissensch. 1881. **19**. 567.
[2]) Schlossmann, Zentralbl. f. inn. Med. 1895. **16**. 189.

Digitized by Google

figuren gelangen aus dem Prostatasekret beim Manne (Posner), oder aus den Harnwegen, vornehmlich aus den Nieren (Munk)[1]) ins Harnsediment. Eingehendere Untersuchungen haben gelehrt, dass insbesondere die chronische Nephritis sich durch reichlichen Gehalt solcher Lipoidfiguren auszeichnet (Munk, Falk und v. Siebenrock)[2]). Sie finden sich hier entweder Zellen oder Cylindern aufgelagert oder frei in der Flüssigkeit schwimmend. Zur Untersuchung auf diese doppelbrechenden Fettröpfchen eignen sich nur frische Harne. Aus diesen verschwinden die Gebilde, sobald die Harne einige Stunden gestanden sind.

Es dürfte sich bei diesen Lipoidkügelchen chemisch nicht um reine Substanzen, sondern um ein Gemenge von Fettstoffen handeln. Sowohl Cholesterinölsäureester, als auch ein Cerebrongemenge gibt die oben beschriebenen Formationen der flüssigen Kristalle.

13. Pigmente.

a) Indigblau, Indigrot.

(Tafel IV. Fig. 4.)

Vorkommen und Bildung. Verfüttertes oder im Organismus gebildetes Indol wird in oxydierter Form als Indoxyl an Glykuronsäure gebunden oder als Ätherschwefelsäure aus dem Organismus durch den Harn hinausgeschafft. Es finden sich diese Körper in geringer Menge in jedem normalen Harn. Bei einer Reihe von Erkrankungen, die mit Stagnation und Fäulnis des Darminhaltes einhergehen, ist der Gehalt der Indoxylkörper im Harn stark vermehrt. Wenn solche indikanreiche Harne der ammoniakalischen Harngärung anheimfallen, so zersetzt sich die Indoxylglykuronsäure resp. die Indoxylschwefelsäure unter Bildung von Indigo.

Dieser Farbstoff kann, wenn die Zersetzung innerhalb des harnleitenden Apparates vor sich geht, schon im Organismus ausfallen und gelegentlich an dem Aufbau von Harnsteinen mitbeteiligt sein. Man findet dann in bestimmten Steinschichten den Farbstoff in amorphem oder krystallinischem Zustand in einer Grundsubstanz eingebettet. Oder es fällt der Farbstoff erst nach dem Entleeren unter Luftzutritt aus.

Indigosediment im Urin wurde beobachtet bei Perforationsperitonitis (Wolf)[3]), bei Cystitis, Pyelitis und Pyelonephritis (Kahler[4]),

[1]) Fr. Munk, Deutsche med. Wochenschr. **36**. 1898. 1910.
[2]) Falk u. v. Siebenroek. Med. Klinik 1911. Nr. 19.
[3]) Wolf, Zentralbl. f. med. Wissensch. 1888. 8.
[4]) Kahler, Prag. med. Wochenschr. 1888. S. 544.

Digitized by Google

Plosz[1]), v. Jaksch[2]), Rosin[3])), bei Leberabscessen mit sauerreagierendem Harn (H. Lorenz[4])), bei hypertrophischer Lebercirrhose (v. Jaksch[5]), von Wang[6])), ausserdem von Gröber[7]), von Dixon Mann[8]).

Eigenschaften. Indigblau wurde in amorphen blauschwarzen Massen oder in kleineren und grösseren, den Durchschnitt einer Eiterzelle erreichenden, stark glänzenden und homogen aussehenden kugeligen Körpern von dunkelblauer Farbe angetroffen und endlich als schwarzblaue nadelförmige Krystalle, die meist etwas gewunden und zu Büscheln oder Sternfiguren angeordnet waren (s. Abb. Taf. IV, Fig. 4).

Selten in nativem Harn, dagegen bei künstlicher Darstellung durch Extraktion des Farbstoffes aus Harn mit Chloroform und Verdunsten des Lösungsmittels sieht man die Krystalle in rhombischen Plättchen, die ebenfalls blau, bald lichter, bald dunkler gefärbt sind. Die Krystalle sind am Boden oder an den Wänden des Gefässes, häufig auch an der Oberfläche des Harns zu finden. In grosser Menge vertreten geben sie dem Harn eine angedeutet bläuliche Färbung (v. Jaksch). Das blaue Sediment löst sich in Chloroform, in heissem Alkohol, sehr schlecht in Äther. Von verdünnten Säuren und Alkalien wird es nicht angegriffen, von Oxydationsmitteln, z. B. Salpetersäure, hypermangansaurem Kali, entfärbt. Mit verdünnter Salzsäure digeriert, mit Wasser gewaschen und in Chloroform aufgenommen, gibt es ein charakteristisches Spektrum.

In den Harnen, in denen Indigblau beobachtet wird, ist stets auch Indigrot nachweisbar. Es entsteht wie der blaue Farbstoff aus Indoxylschwefelsäure und Indoxylglykuronsäure. Bei Einwirkung von Salzsäure oder Schwefelsäure auf Harn mit oder ohne gleichzeitige Verwendung von Oxydationsmitteln tritt Rotfärbung auf (siehe Jafféсche Indikanprobe). Bei der ammoniakalischen Harngärung scheidet es sich so wie Indigblau als Sediment aus dem Harn aus. In Alkohol, auch in kaltem, löst es sich sehr gut, daher das Sediment hinzugefügten Alkohol rot färbt (Chiari)[9]). Es krystallisiert in ähnlichen Formen wie Indigblau. Die Krystalle haben jedoch im auffallenden Licht einen intensiven Kupferglanz, im durchfallenden Licht sind sie rotviolett.

1) Plosz, Zeitschr. f. phys. Chem. **6**. 504. 1882.
2) v. Jaksch, Prag. med. Wochenschr. **17**. 602. 1882.
3) Rosin, Virchows Arch. **123**. 538. 1891.
4) H. Lorenz, zit. bei Jaksch, Klin. Diagnostik. 5. Aufl. S. 375.
5) v. Jaksch, Klin. Diagnostik. 5. Aufl. S. 375.
6) Gröber, Münch. med. Wochenschr. 1904. S. 61.
7) Wang, Salkowski-Festschr. 1904.
8) Dixon Mann, Medical Chronicle. März 1905.
9) Chiari, Prag. med. Wochenschr. 1888. S. 541.

Digitized by Google

b) Bilirubin (Hämatoidin).

(Tafel IV. Fig. 5.)

In älteren Arbeiten findet sich als nicht allzu seltener Befund die Anwesenheit von Hämatoidinkrystallen in pathologischen Harnsedimenten erwähnt. Das Hämatoidin wird von den meisten Autoren als identisch mit dem Bilirubin angesprochen. Jedenfalls kann man annehmen, dass die „Hämatoidinkrystalle" sich zum grössten Teile aus Bilirubin zusammensetzten. In dem äusseren Aussehen lassen sich reine Bilirubinkrystalle von den Hämatoidinkrystallen nicht unterscheiden.

Vorkommen. Die Bilirubinkrystalle können bei bestehendem Ikterus und bei Gegenwart von Blutfarbstoffen im Harn auftreten.

So wurden sie angetroffen im ikterischen Harn (Fritz[1]), Kussmaul[2])), bei akuter gelber Leberatrophie mit Ikterus (Rosenheim[3]), bei Pyonephrose mit vorübergehender Hämaturie (Ebstein[4])), bei Morbus Brighti mit roten Blutkörperchen im Sediment (Leyden[5])), bei Zottenkrebs der Blase (Hofmann und Ultzmann[6])), bei Nierenaffektionen der Schwangeren (Hiller[7])). Ein ausgiebiges Feld für das Auffinden von Bilirubinkrystallen sind nach Fritz Infektionserkrankungen. Er fand dieselben bei Scarlatina, bei Ileotyphus und bei Lungentuberkulose mit Amyloidentartung der Nieren. Auch traumatischen Affektionen mit Blutextravasaten in den Nieren oder in den Nierenbecken verdanken diese Krystalle im Harn oft ihren Ursprung (Grossmann[8])).

Die Bilirubinkrystalle sind entweder frei zwischen dem Sediment verstreut oder Rundzellen, Schleimfäden und Gewebsfetzen aufgelagert. Oft finden sie sich innerhalb von Epithelzellen auskrystallisiert.

Eigenschaften. In zwei Formen sind sie am häufigsten anzutreffen; krystallisiert in ockergelben, länglichen geschwungenen Nadeln und in kurzen rhomboiden Tafeln, oder mehr weniger reichlich als amorphes Pigment (s. Taf. IV, Fig. 5). Die Löslichkeitsverhältnisse schützen vor Verwechslung mit ähnlichen Gebilden. Die Krystalle lösen sich nicht in Wasser, sehr gut in Chloroform, in warmem Amylalkohol; in Äther lösen sie sich schlecht, besser in Äthylalkohol. Aus einer Chloroformlösung scheiden sie sich wieder krystallinisch aus. Mit Alkalien verbinden sie sich zu salzartigen Verbindungen, die in Wasser mit gelber Farbe löslich sind. Die Bilirubinkrystalle geben die Gallenfarbstoffreaktionen. Bei Zusatz von salpetrige Säure enthaltender Salpetersäure zu den Krystallen erkennt man mikroskopisch das Auftreten einer grünen Färbung am Rande derselben.

[1]) Fritz, Zeitschr. f. klin. Med. 2. 470. 1881.
[2]) Kussmaul, Würzburger med. Zeitschr. 4. 63. 1863.
[3]) Th. Rosenheim, Zeitschr. f. klin. Med. 15. 441. 1889.
[4]) W. Ebstein, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 23. 115. 1879.
[5]) Leyden, Zeitschr. f. klin. Med. 2. 183. 1881.
[6]) Hofmann und Ultzmann, Zit. bei W. Ebstein, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 23. 115. 1879.
[7]) Hiller, Zeitschr. f. klin. Med. 2. 685. 1881.
[8]) Grossmann, Zentralbl. f. inn. Med. 1906. S. 262.

Digitized by Google

c) Uroerythrin.

Vorkommen. Dieser für gewöhnlich im normalen Harn in geringer Menge in Lösung befindliche Harnfarbstoff findet sich im Sediment, sobald Urate ausfallen. Nach Garrod erscheint das Uroerythrin im Uratsediment in chemischer Verbindung mit Harnsäure, was daraus hervorgehen soll, dass der an Harnsäure gebundene Farbstoff ein anderes Spektrum besitzt als das reine Uroerythrin. Unter Umständen kann der Farbstoffgehalt des Harns zunehmen, so bei Lebererkrankungen, bei Zirkulationsstörungen etc. Dies gibt sich durch eine intensivere Färbung des Sediments zu erkennen.

Uroerythrin ist, isoliert, von ziegel- oder krebsroter Farbe; das Uratsediment wird davon gelb, rosa- bis ziegelrot gefärbt. Dem Tageslicht gegenüber ist es nicht beständig und blasst ab. Aus dem mit Wasser gewaschenen Sediment lässt es sich durch Alkohol, Amylalkohol, Äther nicht ausziehen; dagegen geht es in angesäuerten dünnen Alkohol über.

Dass sich mit den Uraten gelegentlich noch andere Farbstoffe, wie z. B. Gallenfarbstoff, ein schwarzer Farbstoff bei Karbolharnen etc., niederschlagen, ist bereits erwähnt worden.

d) Rubazonsäure.

(Tafel IV. Fig. 6.)

Nach dem Gebrauch von Pyramidon geht in den Harn ein Farbstoff über, der meist nach längerem Stehen an der Luft sich durch die purpurrote Färbung des Urins zu erkennen gibt. Hie und da bemerkt man dabei das Auftreten von zierlichen, rot gefärbten Nadeln, die eine gewisse Ähnlichkeit mit den Bilirubinkrystallen haben (s. Tafel IV. Fig. 5). Sie bestehen nach den Untersuchungen von Jaffé[1]) aus Rubazonsäure. Sie scheiden sich meist erst beim Stehen des Harnes ab (Mauthner[2])), bisweilen finden sie sich auch präformiert im Blasenharn (Jaffé). Durch Schütteln mit Äther, Chloroform, am besten mit Essigester geht der Farbstoff besonders nach Ansäuern in Lösung.

Überblick über die nichtorganisierten Sedimente.

Wichtige Aufschlüsse für die Diagnose eines Sedimentes gibt neben den zum Teil charakteristischen morphologischen Verhältnissen die Prüfung auf physikalische und chemische Merkmale.

Das Uratsediment ist stets mehr oder weniger gefärbt; es findet sich nur in saurem Harn und löst sich beim Erwärmen sowie auf Zusatz von Alkalihydrat.

[1]) Jaffé, Ber. d. deutsch. chem. Ges. 34. 2737.
[2]) J. Mauthner (Privatmitteilung).

Digitized by Google

Das Phosphatsediment gibt einen weissen Bodensatz, der beim Kochen nicht verschwindet, wohl aber auf Zusatz von Essigsäure; die Reaktion ist alkalisch.

Es finden sich:

A. In saurem Harn:

Harnsäure (Wetzstein-Tonnenform; seltener Stäbchen- und Sanduhrform; gefärbt).

Urate (amorph feine Körnchen; gefärbt).

Oxalsaurer Kalk (Briefkuvertform, Prismen mit pyramidalen Endflächen; seltener Hantel-, Bisquitform; farblos, bei Ikterus oft grünlich-gelb gefärbt).

Schwefelsaurer Kalk (langgestreckte schmale Tafeln mit schräg abschneidenden Enden, in Büscheln).

Hippursäure (schmale Prismen oder rhombische Tafeln).

Cystin (sechsseitige Tafeln; farblos).

Xanthin (wetzsteinähnlich (Bence Jones)).

Leucin (Kugeln mit radiärer Streifung; seltener unregelmässige Knollen).

Tyrosin (feinste Nadeln in Doppelbüscheln).

Fett u. Fettsäurenadeln (stark lichtbrechende Tropfen, zuweilen mit ausstrahlenden feinen Nadeln).

Lipoide (im polarisierten Licht doppelbrechend, lichte Kugeln mit dunklem Kreuz).

Bilirubin (Hämatoidin) (ockergelbe, längliche geschwungene Nadeln; kurze rotgefärbte, rhombische Tafeln; seltener amorphes Sediment).

I. In verdünnter Salzsäure unlöslich:

Harnsäure (Murexidprobe).

Schwefelsaurer Kalk (Probe auf Schwefelsäure und Kalk).

Hippursäure (in Ammoniak und Alkohol löslich).

Fettsäurenadeln (in Äther löslich).

II. In verdünnter Salzsäure löslich:

Oxalsaurer Kalk (in Essigsäure nicht löslich).

Cystin (in Ammoniak löslich; Schwefelprobe, Mauthnersche Reaktion mit Kupferacetat).

Xanthin (in Ammoniak löslich; Salpetersäureprobe).

Tyrosin (in warmen Ammoniak löslich; Probe mit Millons Reagens).

Leucin.

Digitized by Google

B. In alkalischem Harn:

Ammonium-Urat (Wurzel-, Stechapfel-, Morgensternform; seltener Kugelform, Dumbbells; gefärbt).

Basisch phosphorsaure Magnesia (längliche rhombische Tafeln oft zu zweien aneinander gelagert; farblos).

Dicalciumphosphat (spitz zulaufende Prismen, in Garben-, Fächerform; farblos).

Phosphorsaure Ammonmagnesia (Tripelphosphat) (Sargdeckelform; farblos).

Kohlensaurer Kalk (schwachglänzende Kugeln, meist paarweise, Hantelform; farblos).

Cholesterin (rhombische Tafeln).

Indigblau, Indigrot (amorphe blaue, rote Massen; seltener Nadeln).

I. In Essigsäure löslich:

Ammonium-Urat (Ausscheidung von Harnsäurekrystallen).

Kohlensaurer Kalk (Gasentwickelung).

Tripelphosphat (ohne Gasentwickelung).

Erdphosphate (ohne Gasentwickelung).

II. In Äther löslich:

Cholesterin (Salkowski-, Liebermannsche Reaktion).

Indigblau in Spuren.

Es kann vorkommen, dass das krystallinische Sediment eines ursprünglich sauren Harns erhalten bleibt zu einer Zeit, wo die Reaktion des Harns schon alkalisch geworden ist (Krystalle von oxalsaurem Kalk und von Harnsäure u. a.), oder dass bei leichtsaurer Reaktion Krystalle sich vorfinden, die für gewöhnlich in alkalischem Harn auftreten (Tripelphosphat, Dicalciumphosphat). Andererseits werden bei amphoterer Reaktion unter Umständen Substanzen sowohl der Gruppe A als auch der Gruppe B beobachtet. Dagegen verlangt das Sediment von schwefelsaurem Kalk unbedingt eine stark saure, von Indigblau und Indigrot eine alkalische Reaktion des Harns.

B. Organisierte Sedimente.

Untersuchungs-Methodik.

Unter den zahlreichen Methoden, welche vorgeschlagen wurden, um ein für das mikroskopische Studium des organisierten Harnsediments brauchbares Präparat zu liefern, nimmt das frisch hergestellte Nativpräparat noch immer eine dominierende Stelle ein. Ein Sedimenttropfen

Digitized by Google

des frischen Harns auf einen Objektträger gebracht und mit einem Deckglas versehen, liefert ein Präparat, das neben der Raschheit und Einfachheit der Herstellung noch den Vorteil besitzt, die natürlichsten und für die klinische Diagnostik brauchbarsten Äquivalentbilder der morphotischen Sedimentteile zu geben.

Über den Vorgang beim Sedimentieren wurde an anderer Stelle gesprochen (S. 1541). Wenn man nicht in der Lage ist, den Harn ganz frisch zu untersuchen, so empfiehlt sich der Zusatz von ca. 50 ccm Chloroformwasser (1:200) zum Harn, als ein Antiseptikum, welches die Formelemente am wenigsten schädigt (Salkowski[1]), v. Jaksch[2]), Sahli[3])). Es bedarf der Harn eines solchen, die bakteriellen und fermentativen Prozesse hemmenden Zusatzes, weil unter der Einwirkung derselben sich das Bild des Sediments rasch ändert; namentlich die hyalinen Cylinderformationen verschwinden sehr bald.

Es wurden eine Reihe von Konservierungsmethoden des Harnsediments angegeben, die sich zum Teil gut bewährt haben. Kohn[4]), Gumprecht[5]) u. a. verwendeten Formalin. Es genügt, zu dem gewaschenen Sediment einige Tropfen einer 2—10 % igen Formollösung hinzuzufügen. Auch 1 % ige Osmiumsäure leistet gute Dienste (Cornil u. Ranvier[6]), Kuttner[7]), Lenhartz[8]), Posner[9]), Sahli). Zu 2—3 Tropfen Sediment werden 2—3 ccm 1%ige Osmiumsäure hinzugefügt und nach 24—48 Stunden die Säure durch Waschen mit Wasser oder durch Zusatz von Glycerin entfernt.

Die Zellen und Cylinder nehmen dann entsprechend den Fetttröpfchen-Einschlüssen und Auflagerungen einen braunen bis schwarzen Farbenton an. Es ist unerlässlich, das Sediment vorher ein- bis zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung auszuwaschen. Bei Verwendung von Formol macht sich andernfalls die Bildung von Diformaldehyd-Harnstoff in Form von kugeligen Niederschlägen unangenehm bemerkbar.

Die Färbung der Harnsedimente kann gelegentlich, wenn es sich um differentielle Darstellung der einzelnen Zellbestandteile handelt, von Wert sein. Bestimmte Färbungen wurden neben dem Zweck der Charakterisierung auch zur Lokalisierung von Gebilden des Sediments verwertet, da es den Anschein hatte, dass morphologisch augenscheinlich

[1]) Salkowski, Deutsche med. Wochenschr. 1888. S. 16.
[2]) v. Jaksch, Klin. Diag. 5. Aufl. S. 336.
[3]) Sahli, Klin. Untersuchungsmethoden. 1905. 4. Aufl. S. 584.
[4]) Kohn, Zeitschr. f. klin. Med. 38. Heft 1/3. 1900.
[5]) Gumprecht, Zentralbl. f. inn. Med. 1902.
[6]) Cornil und Ranvier, Manuel d'histologie patologique. 1895.
[7]) Kuttner, Zit. bei Lenhartz S. 275.
[8]) Lenhartz, Mikrosk. und chemische Untersuchungen.
[9]) Posner, Berl. klin. Wochenschr. 1903.

Digitized by Google

gleichartige Gebilde je nach der Herkunft tinktoriell verschiedenes Verhalten zeigten.

Die Färbung kann am feuchten oder am trockenen Sediment vorgenommen werden. Das Sediment kann dem frischen Harn entstammen, oder mit Konservierungszusätzen vorbehandelt sein.

Für die Färbung des Sediments im feuchten Zustand genügt es, das mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschene Sediment für kurze Zeit der Einwirkung der Färbemittel zu überlassen. Das gefärbte Sediment wird gleich untersucht oder der überschüssige Farbstoff vorher entfernt. Liebmann[1]) färbte mit einigen Tropfen einer Lösung von 2 g Methylenblau in 100 ccm 10 %iger Formalinlösung.

Grosz[2]), Knapp[3]), Necker[4]) färbten mit einem Tropfen einer 1%igen wässerigen Lösung von alizarinsulfosaurem Natron. Die Formelemente färbten sich dabei je nach Reaktion verschieden (gelb, rot, violett).

Kozlowski[5]) verwendete 1 %ige Eosinlösung. Nach Wederhake[6]) geben bei saurem und neutralem Harn differentielle Färbungen mit einer Mischung von 20 ccm einer 1 %igen wässerigen Neutralrotlösung und 10 Tropfen einer konzentrierten alkoholischen Methylviolettlösung gute Bilder.

Die Färbung des trockenen Sedimentes ist mit gewissen Schwierigkeiten verbunden. Das Sediment wird zunächst von den gelösten Harnbestandteilen mit physiologischer Kochsalzlösung reingewaschen und dann die Formelemente auf dem Objektträger zum Anhaften gebracht.

Dies geschieht meist durch Lufttrocknung. Eine besondere Methode für die Herstellung von Trockenpräparaten mit Hilfe eines Klebemittels entsprechend den Angaben von Olt[7]) „über das Aufkleben mikroskopischer Schnitte" habe ich am organisierten Sediment ausgeprüft und als recht brauchbar gefunden. Das Klebemittel ist eine Phenolgelatine, die folgendermassen hergestellt wird: 10 g Gelatine werden in 100 ccm Wasser im Wasserbad gelöst und mit dem Eiweiss eines Hühnereies versetzt, bis nach weiterem Kochen unter Umrührung der Mischung alle Verunreinigungen durch das gerinnende Eiweiss ausgefällt sind. Das vollkommen klare Filtrat wird mit 10 ccm einer 5 %igen Phenollösung versetzt. Nach dem Abkühlen erstarrt die Flüssigkeit zu einer gallertigen Masse. Von dieser Phenolgelatine wird ein hirsekorngrosses Stück auf dem Objektträger bis zum Schmelzen erwärmt und mit dem reinen Daumen gleichmässig in feiner, kaum sichtbarer Schichte über dem Objektträger verteilt und abkühlen gelassen. Hierauf wird ein Tropfen des gewaschenen Harnsedimentes auf diese Schichte ausgebreitet und über eine Formolflasche gehalten, um es den Formoldämpfen

[1]) Liebmann, Münch. med. Wochenschr. 1902. S. 1768.
[2]) Grosz, Wien. klin. Rundschau. 1894. S. 41.
[3]) Knapp, Zentralbl. f. inn. Med. 1902. S. 1.
[4]) Necker, Ber. d. Ges. d. Ärzte Wiens. 1905.
[5]) Kozlowski, Virchows Arch. 1902. **169**. 161.
[6]) Wederhake, Münch, med. Wochenschrift 1905. S. 1780.
[7]) Ott, zitiert nach Herzheimer, Untersuchungsmethoden 1912. p. 31.

Digitized by Google

auszusetzen. Schliesslich wird ein in 10 $^0/_0$ iges Formol getauchter Filtrierpapierstreifen auf die belegte Objektträgerfläche ausgebreitet, leicht angedrückt und nach 1—2 Minuten wieder abgehoben. Das Formol wird mit Wasser abgewaschen. Dieses Objektträgerpräparat kann nun wie ein histologischer Celloidin- oder Gefrierschnitt gefärbt und weiterbehandelt werden. Das Sediment haftet fest auf seiner Unterlage und wird bei Färbeprozeduren tingiert, ohne dass die Gelatineunterlage mitgefärbt wird.

Weiter müssen die Formelemente vor der Färbung fixiert werden. Die Fixierung, deren Zweck in möglichst naturgetreuer Aufbewahrung der Zellstrukturen besteht, geht mit einer Denaturierung des Zelleiweisses einher und kann mit allen jenen Reagentien erreicht werden, die der histologischen Technik zu diesem Zwecke zur Verfügung stehen, z. B. mit Alkohol, Formalin, Müllerscher Flüssigkeit, Sublimat, 1%iger Osmiumsäure. Alkohol soll nicht über 90%ig verwendet werden; Müllersche Flüssigkeit fixiert und härtet nur sehr langsam, nach Sublimatfixation muss eventuell mit jodhaltigem Alkohol, bei Verwendung von Osmiumsäure mit Wasser gut nachgewaschen werden, weil sonst Niederschläge entstehen.

In manchen Fällen, wo der Verdacht auf Tumorzellen besteht, ist es, um die feinen Zellstrukturen leicht zu identifizieren, angezeigt, das fixierte Sediment in Celloidin einzubetten und wie ein eingebettetes Gewebsstück weiter zu behandeln.

Sodann folgt die Färbung des Präparates. Es genügt für gewöhnlich die Hämatoxylin-Eosinfärbung; Kohn[1]) hat mit Sudan und Ehrlichschem Hämatoxylin gefärbt, um Fett und Kerne elektiv sichtbar zu machen. Senator[2]) machte Angaben über die verschiedene Färbung der Elemente mit Ehrlichs Triacid, das gute Bilder liefert. Cannata[3]) färbte das lufttrockene Präparat in wässeriger Methylenblau- und Karbolfuchsinlösung nach vorausgegangener Fixierung in einer Mischung von 25 ccm einer 1%igen Chromsäurelösung, 1 ccm einer 1%igen Osmiumsäurelösung, 16 ccm einer 1%igen Eisessiglösung und 263 ccm Aqua dest. Es kann das Trockenpräparat auch mit anderen Farbstoffen wie Gentianaviolett, Malachitgrün, Vesuvin gefärbt werden; doch ist darauf zu achten, dass der Farbstoff in dem Einschlussmedium nicht zerfliesst.

Für die Herstellung von Dauerpräparaten eignet sich eine Glyceringelatine (zu gleichen Teilen), der etwas Thymol zugesetzt wurde. Es lässt sich damit ein natives Sediment für längere Zeit brauchbar erhalten. Man verfährt so, dass man ein erbsengrosses Stück der Glyceringelatine auf dem Objektträger durch leichtes Erwärmen gerade zum Schmelzen bringt und darin mit der Öse einen Tropfen des

[1]) Kohn, l. c.
[2]) Senator, z. nach Bohland, Zentralbl. f. inn. Medizin **15**. Nr. **20**. **1894**.
[3]) S. Cannata, Riforma medica 24. 12. 1908.

Digitized by Google

Sediments verreibt. Hierauf wird ein Deckglas vorsichtig darüber gegeben (Kratschmer und Senft[1])). Mit der Zeit allerdings hellen sich die Formelemente so stark auf, dass sie kaum mehr wahrnehmbar sind. Sehr oft genügt es, das native Deckglaspräparat mit Glyceringelatine zu umranden. Die Verwendung der Glyceringelatine eignet sich besser zu Dauerpräparaten als das blosse Glycerin. In dem letzteren Falle muss das Deckglas mit Asphaltlack umrandet werden. Kozlowski[2]) empfahl die Farantsche Flüssigkeit (cf. S. 1542) als gut brauchbare Einschluss- und Kittmischung. Zur Vermeidung des Eindringens von Luft kann überdies der Rand des Deckglases mit dieser Substanz nachbestrichen werden.

Trockenpräparate lassen sich, wenn das Sediment entsprechend fixiert wurde, nach der Färbung mit Alkohol entwässern, mit Xylol aufhellen und in neutralem Canada-Balsam einschliessen.

Die Untersuchung von Harnsedimenten mittelst Dunkelfeldbeleuchtung (Lackner)[3]) hat wenig gegenüber den gewöhnlichen Methoden voraus. Bloss eine Unterscheidung von Exsudation gegenüber Degeneration der Nierenzellen soll hier ermöglicht werden. Auch soll der Nachweis eben erst begonnener fettiger Degeneration ermöglicht werden.

1. Elemente des Blutes.

a) Erythrocyten.

(Tafel V. Fig. 5.)

Das Vorkommen von Erythrocyten im Harn beschränkt sich nicht allein auf pathologische Fälle; auch im Harn vollständig normaler Menschen — von Frauen während der Menstruationszeit ist hier abgesehen — finden sich vereinzelt rote Blutkörperchen.

Zu ihrer Auffindung ist es oft notwendig, das normale Schleimsediment, wo solches vorhanden ist, herauszupipettieren und gesondert zu zentrifugieren (Klieneberger und Oxenius[4])), oder sich einer besonderen Methode des Harnsedimentierens zu bedienen (Winkler und Fischer). Siehe S. 1541. Schliesslich können dieselben auch durch Farbstoffe leichter sichtbar gemacht werden. Bié[5]), Christensen[6]) empfehlen Färbung des Sediments im feuchten Zustande mit Krystallviolett. Die Erythrocyten werden damit rötlich gefärbt.

Man trifft die roten Blutkörperchen vorübergehend bei normalen Menschen nach grösseren Sportleistungen und nach Überanstrengungen im Harn an (Leyden[7]), Klemperer[8]), Baldes, Heichel-

---

[1]) Kratschmer und Senft, Mikr. und mikr.-chemische Untersuchungen der Harnsedimente. 1902.

[2]) Kozlowski, Virchows Arch. **169**. 161. 1902.

[3]) Lackner, Dissert. Berlin 1910.

[4]) Klieneberger und Oxenius, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 1904. **80**. 225.

[5]) Bié zit. nach Christensen.

[6]) Christensen, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **98**. 370. 1910.

[7]) Leyden, zit. nach Klemperer, Deutsche med. Wochenschr. 1897. 156. Nr. 9 und 10.

[8]) Klemperer, Deutsch. med. Wochenschr. 1897. Nr. 9 und 10.

Digitized by Google

heim, Metzger[1]) Selig[2]), Christensen). Besonders nach forcierter Lordosestellung, wie sie von Jehle[3]) zur Prüfung der ortostatischen Albuminurie angegeben wurde, kann es auch bei ganz gesunden Individuen zur Ausscheidung von zahlreichen roten Blutkörperchen kommen.

Von den Erkrankungen, in deren Verlauf Hämaturie vorkommen kann, sei neben den Blutungen in den Harnwegen nach mechanischen Läsionen Nierenstauung, vor allem nach Venenthrombose, akute Nephritis, Niereninfarkt, Geschwüre, Krebs, Tuberkulose, hämorrhagische Diathese und Steinbildung besonders hervorgehoben.

Die Menge der roten Blutkörperchen im Harn wechselt innerhalb weiter Grenzen; sie geben sich bei grösserem Gehalt zu erkennen durch eine dunkelrötliche Färbung des Urins oder durch eine rote Blutschichte nach dem Sedimentieren desselben. Eine Verwechslung mit sehr uratreichen Harnen wird oft beobachtet. Auch nach Genuss von Rheum kann es zu einer Rotfärbung des Harnes kommen, die fälschlich auf Blut bezogen werden kann. Da die Färbekraft der roten Blutkörperchen eine sehr grosse ist, so wird die Menge des Blutes von den Patienten zumeist überschätzt.

Sie finden sich verstreut in Einzelexemplaren (Nephritis) oder in Geldrollenformen und in Blutcoagulis (Blutungen aus der Blase, aus dem weiblichen Genitale), schliesslich zusammengeklebt zu sogenannten Blutcylindern (renale Hämaturie).

Sind die roten Blutzellen gut erhalten, so sind sie im Harnsediment an ihrer bikonkaven Scheibenform, von der Seite gesehen an ihrer Bisquitform, und an ihrem schwachgelblichen Farbenton leicht zu erkennen. Form und Farbe hängen im übrigen ab von der Beschaffenheit des Harns und von der Ursprungsstelle der Blutkörperchen. Man beobachtet die Stechapfelform und die Mikrocyten in konzentriertem Harn, die sogen. Blutschatten, das sind die farblosen, aufgequollenen Stromata, im stark verdünnten Harn und bei renaler Hämaturie. Schwach saure Reaktion des Urins lässt die roten Blutzellen länger intakt als alkalische Reaktion. An den Erythrocyten wurde bisweilen das Symptom der „Fragmentation" beobachtet, d. i. der Bildung von Fortsätzen, welche sich abschnüren und als freie Kugeln herumschwimmen. Diese Veränderungen sollen bei nephrogener Blutung, dagegen nicht bei Blasenblutungen auftreten (Gumprecht[4]), Gerhardt[5])).

Über die Anwesenheit von roten Blutkörperchen geben neben dem Mikroskop auch die verschiedenen Blutproben Aufschluss.

---

[1]) Baldes, Heichelheim, Metzger, Münch. med. Wochenschr. 1906.
[2]) Selig, Wiener klin. Wochenschr. 1908.
[3]) Jehle, Leipzig und Wien. Deuticke 1909.
[4]) Gumprecht, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **53**. 45. 1894.
[5]) Gerhardt, Mitteilungen aus d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. **2**. 739. 1897.

Digitized by Google

b) Leukocyten.

(Tafel V. Fig. 2.)

Diese Zellen finden sich auch im normalen Harn. Bei abscedierenden Prozessen innerhalb der Harnwege oder bei Durchbruch eines Eiterherdes aus der Nachbarschaft in dieselben, sowie bei Cystitis setzen sich oft dicke Schichten von Eiterkörperchen im Harn ab. Auch nach Genuss von Alkohol (Glaser[1])) und nach anstrengenden Körperübungen (Selig[2]), Christensen[3])) wird ein grösserer Gehalt davon im Harn gefunden.

Die weissen Blutzellen im normalen, schwach sauren Harn sind gewöhnlich kreisrund, scharf konturiert; das Protoplasma ist gekörnt, bei Essigsäurezusatz tritt der Kern deutlicher hervor. Im stark verdünnten Urin quellen die Zellen auf und sind von den Epithelzellen kaum zu unterscheiden. Auf Zusatz einer Jod-Jodkaliumlösung färben sich die letzteren schwachgelb, während die Leukocyten einen bräunlichen Ton annehmen (Glykogen-Reaktion v. Jaksch[4])).

Unbeeinflusst von Harnkonzentration, von Reaktion und von dem Gehalt an normalen Harnsubstanzen nehmen die Leucocyten bisweilen mannigfach verzerrte Formen an, wobei der Protoplasmarand unscharf wird. Diese deformierten Zellbilder wurden im Harnsediment insbesondere bei Tuberkulose des Urogenitaltraktes beobachtet (Colombino[5]), Adrian[6]), Goldberg[7])). Es fehlt nicht an Untersuchungen, die den Ursprungsort der Harnleukocyten auf Grund chemischer Verschiedenheiten in der Farbenreaktion der Zellsubstanz feststellen wollten. Grosz[8]), Knapp[9]), Necker[10]) färbten das Sediment mit einem Tropfen einer 1%igen wässerigen Lösung von alizarinsulfosaurem Natron und sahen Leukocyten, die aus renalen Partien stammten, violett gefärbt, während die Eiterzellen bei frischer Cystitis ungefärbt blieben.

Neu ist die Beobachtung von Edelmann und Karpel[11]), die im Harn im Anschluss an einen Asthma bronchiale-Anfall eine Anhäufung von eosinophilen Leukocyten (bis 30%) nachweisen konnten. Die angewandte Färbetechnik war folgende: Frischer Urin, mit Natr. bicarb.

[1]) Glaser, Deutsch. med. Wochenschr. 17. 1193. 1891.
[2]) Selig, l. c.
[3]) Christensen, l. c.
[4]) v. Jaksch, Klin. Diag. 5. Aufl.
[5]) Colombino, Annales des maladies des organes Genito-Urinaires. 1906.
[6]) Adrian, Ber. d. Strassburger Poliklinik f. Harnkrankh. 1906, 1907.
[7]) Goldberg, Deutsch. med. Wochenschr. 1909. Nr. 4.
[8]) Grosz, Wiener klin. Rundschau. 1894. Nr. 41.
[9]) Knapp, Zentralbl. f. inn. Med. 1902. Nr. 1.
[10]) Necker, Ber. d. Ges. d. Ärzte in Wien. 1905.
[11]) Edelmann und Karpel, Deutsche med. Wochenschr. 38. 1271—1273. 1912.

Digitized by Google

schwach (gegen Lackmus) alkalisch, wird zentrifugiert. Das Sediment wird auf Deckgläschen gebracht und eingetrocknet. Fixieren in Hitze oder Aceton (10 Minuten) und Färben mit Ehrlichs Triacid (10 bis 90 Minuten), abwaschen, trocknen und in neutralem Kanadabalsam einschliessen.

c) Fibringerinnsel.

Selten beobachtet man im Harn das Auftreten von verästelten und verzweigten Gerinnseln. Fibringerinnsel können als solche entleert werden oder erst später sich gebildet haben. Diese Fasermassen setzen sich hauptsächlich aus Fibrinstoff zusammen und lassen sich von Blutungen, von tiefgreifenden fibrinösen Entzündungen der Harnwege herleiten, sowie von einem Zustand, der als Chylurie bezeichnet wurde und der in schweren Fällen auch mit Ausscheidung von Fibrinogen einhergeht (Friedr. Müller[1]), Senator[2]) Klein[3]), Tritschitta[4]), v. Jaksch[5]) u. a.).

Entsprechend dem Blutgehalt des Harns sind die Gerinnsel blutig tingiert und klumpen sich beim Herausfischen zu dichten zähen Fasermassen zusammen oder sie bilden ein das Gefäss ausfüllendes gelatinöses Coagulum. Oft führen die Fibringerinnsel auch Schleimsubstanzen mit.

Die Fibrinfasern geben die Weigertsche Fibrinfärbung.

Zum chemischen Nachweis filtriert man die Gerinnsel durch ein dichtes Tuch vom Harn ab und wäscht sie, um das anhaftende Serumeiweiss zu entfernen, oftmals mit 5—10%iger Kochsalzlösung aus, bis das Filtrat keine Eiweissreaktionen mehr gibt. Ist das Gerinnsel dabei erhalten geblieben, so spricht dies schon für die Zusammensetzung aus Fibrin; es löst sich in der Kälte weder in verdünnter Säure noch in verdünnten Alkalien, wohl aber nach längerer Digestion in der Wärme mit 1 % iger Soda- oder mit 0,5 % iger Salzsäurelösung. Diese Lösung gibt dann Eiweissreaktionen.

2. Elemente des Epithelbelags und der Drüsen.

a) Epithelien.

(Tafel. V. Fig. 1, 2, 3, 4, 6.)

Der Befund von Epithelzellen im Harnsediment ist nicht unbedingt pathologisch. Wie bei allen Schleimhäuten, so kann es sich auch beim Epithelbelag der Harnwege um einen durchaus vitalen Vorgang der

[1]) Fr. Müller, zit. nach Huppert, Analyse d. Harns. 10. Aufl. S. 450.
[2]) Senator, Virchows Arch. 60. 490. 1874.
[3]) Klein, Wien. klin. Wochenschr. 1896.
[4]) Tritschitta, La Clinica medica. 1900. Nr. 9.
[5]) v. Jaksch, Zeitschr. f. klin. Med. 22. 556. 1893.

Digitized by Google

Gewebsmauserung, der Zelldesquamation und Zellregeneration handeln. Die im Sediment beobachteten Zellen zeigen mannigfache Formen. Sie geben damit die Verschiedenartigkeit des Schleimhautbelags wieder, mit dem der Urogenitaltrakt ausgekleidet ist. Insofern lässt sich die Herkunft der Epithelzellen lokalisieren. Eine gewisse Vorsicht ist jedoch dabei angebracht, weil die Zellen der einzelnen Schichten von verschiedenen Schleimhautpartien zum Teil grosse Ähnlichkeit miteinander haben, und weil andererseits ihre morphologischen Eigenschaften von ihrem Degenerationsstadium und von der jeweiligen Beschaffenheit des Harns abhängig sind.

Praktisch kommen in Betracht die Zellen des Epithelbelags der Urethra, resp. der Vagina, der Blase, des Nierenbeckens und der Niere.

Die Zellen sind bisweilen in ihrem tektonischen Zusammenhang erhalten. Man findet im Sediment grössere Zellverbände, die entweder abgestossene Schleimhautteile, wie die Zellauskleidung von Nierenkanälchen, oder Geschwulstgewebe vorstellen.

Die Epithelien, die der männlichen Urethra entstammen und sich namentlich bei Katarrhen, bei akuter und chronischer Gonorrhoe vorfinden, sind, sofern sie der oberflächlichen Schichte angehörten, Cylinderepithelien.

Die Vaginalzellen zeichnen sich durch ihre Grösse, durch ihre unregelmässige polygonale Form, durch ihr feingranuliertes Protoplasma und dadurch aus, dass sie nur einen kleinen Kern besitzen. Es sind richtige Plattenepithelien.

Die Harnblase besitzt geschichtetes Plattenepithel; die den einzelnen Schichten angehörenden Zellen sind polygonal, rundlich, oder sie sind spindelförmig und mit Fortsätzen versehen. Der Kern ist meist gross und bläschenförmig.

Die Zellen des Nierenbeckens sind meist kleiner; besonders reichlich finden sich in dem von einer Pyelitis stammenden Sediment die sogenannten „geschwänzten Zellen", das sind spindelförmige Zellen mit einem oder zwei Fortsätzen. Differentialdiagnostisch haben sie nur in beschränktem Masse einen Wert. Steindl[1]) berichtet über Riesenzellen im Harnsedimente bei Urogenitaltuberkulose.

Die Nierenzellen sind gewöhnlich rund oder kubisch, etwas grösser als weisse Blutkörperchen. Nur mit Rücksicht auf den die Nierenzellen begleitenden Sediment- und Harnbefund lässt sich eine Differentialdiagnose gegenüber den anderen Epithelien mit grösserer Wahrscheinlichkeit stellen. Die Nierenepithelien kommen einzeln oder gehäuft in schlauchartigen Gebilden und dachziegelartig übereinander-

[1]) Steindl, Wien. klin. Wochenschr. 1910. Nr. 49.

Digitized by Google

getürmt vor. Sie zeigen häufiger wie die von den unteren Abschnitten entstammenden Zellen fortgeschrittene Degenerationsprozesse, ausserdem Pigmentniederschläge, namentlich von Blutfarbstoff. Sie nehmen in dem Fall eine ledergelbe bis gelbbraune Färbung an (Gerhardt[1])).

Alle Epithelzellen verfallen namentlich bei Stagnation in den Harnwegen der fettigen Entartung. Man sieht dann im Zellprotoplasma zarte, stärker lichtbrechende Tröpfchen auftreten, die allmählich an Zahl und Grösse zunehmen, bis sie die ganze Zelle ausfüllen. An Stelle des Strukturbildes der Zelle sieht man schliesslich ein Häufchen von Fetttröpfchen. Der Zelldetritus ist nicht zu verwechseln mit amorphem anorganischem Sediment. Das fettig degenerierte Stadium bringt man färberisch am besten mit der Doppelfärbung mit Sudan und nachträglicher Behandlung mit saurem Hämatoxylin zur Anschauung.

Lipoide Degeneration an den Zellen ist mikroskopisch von dem Bilde der Zellverfettung nicht zu trennen; dagegen sieht man im polarisierten Licht die Fettröpfchen als leuchtende Kugeln mit dunklem Kreuz.

Bittorf[2]) machte zuerst auf das Vorkommen von ganz besonderen pigmenthaltigen Zellen im Harnsediment von Stauungsnieren aufmerksam, die vielfach Analogie zu den Herzfehlerzellen des Sputums zeigen. Diese Zellen enthalten ein goldgelbes, körniges Pigment; sie sind zum Teil gequollen, polymorph, verraten aber wegen ihres polygonalen Charakters ihre epitheliale Herkunft. Das Pigment lässt sich manchmal als eisenhaltig identifizieren. Koller[3]) hat diese Angaben an Hand eines grossen Materials überprüft und auch bestätigen können. Nachdem sich häufig gleichzeitig auch rote Blutkörperchentrümmer zeigen, so meint Koller, dass es sich hier um phagozytierende Zellen handelt. Eine unbedingte Abhängigkeit von einer Nierenstauung, so zwar, dass in zweifelhaften Fällen mit der Diagnose Stauungsniere zu rechnen wäre, glaubt Koller ablehnen zu müssen.

b) Geschwulstpartikel.

Spontan oder im Katheterharn finden sich zuweilen kleinere oder grössere Gewebsstücke, die schon makroskopisch oft als Wucherungen eines Neugebildes zu erkennen sind. Das gilt namentlich von Zottenabschnitten eines Blasenpapilloms, die am besten in Wasser ausgebreitet besichtigt werden. Daneben enthält der Harn meist reichliche rote Blutkörperchen und Eiterzellen. Eine genaue Differentialdiagnose der abgegangenen Geschwulstpartikelchen ist nur durch weitere histologische Behandlung möglich.

c) Spermatozoen.
(Tafel VI. Fig. 1.)

Nach einem Samenerguss, der infolge Coitus, Pollution, Onanie, bei Spermatorrhoe oder nach epileptischen Krampfanfällen erfolgen kann,

[1]) Gerhardt, Mitteilungen aus d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. 2. 739. 1897.
[2]) Bittorf, Münchn. med. Wochenschr. 1909. Nr. 34.
[3]) Koller, Wien. klin. Wochenschr. 1911. Nr. 18.

Digitized by Google

werden mit der nachfolgenden Harnentleerung Spermatozoen aus der Harnröhre mitgespült. Auch im Frauenharn finden sich solche nach stattgehabter Kohabitation. Wenn die Spermatozoen bald darauf untersucht werden, können sie noch in der eigentümlichen schlängelnden Bewegung angetroffen werden. Meist finden sich daneben noch Schleimpartikel und Leukocyten. Im alkalischen Harn verlieren die Samenfäden rasch ihre Bewegung und fallen durch ihren gestreckten oder am Ende ösenförmig umgebogenen Schwanzteil auf.

Bei Spermatorrhoe kommen neben völlig entwickelten Spermatozoen auch die Elemente des unreifen Samens im Harn vor, wie sie sich im Hoden vorfinden; es sind dies Spermatozoen, die noch gruppenweise aneinander haften und noch früheren Entwickelungsstadien entsprechen.

Eine neue Methode zum färberischen Nachweis von Spermatozoen im Harn wird von Gasis[1]) angegeben: Fixieren resp. Sedimentieren in 1 ‰ Sublimat in Verbindung mit $^1/_2$% Salzsäurelösung, Färbung mit Eosin.

In manchen Harnen findet man — nach Ejakulationen — nur bei Dunkelfeldbeleuchtung sichtbare, kleinste Teilchen. Königstein[2]) spricht sie als Wieners Spermatokonien an, stammend aus dem Prostatasekret. Substanzen, die aus den Samenblasen kommen, zeigen sich als grosse grobkörnige Gebilde.

d) Schleimsedimente.

(Tafel V. Fig. 4.)

Wie vereinzelte Epithelzellen im Harn als Ausdruck normaler Abnützungsvorgänge im Lebensprozess in jedem Harn zu finden sind, so sieht man auch physiologischer Weise in jedem Urin Schleimsubstanzen in kleinen Mengen, die je nach ihrer Herkunft und ihrer Beschaffenheit in verschiedener Form manifest werden. Sie sind das Sekret des drüsigen Zellsystems, das zum harnleitenden Apparat gehört.

Schon den Alten war die wolkenartige Trübung des normalen sauren Harns nach kurzem Stehen desselben als „Nubecula" bekannt; sie wurde gemeinhin auch als Blasenschleim bezeichnet (Salkowski und Leube). Diese schleimigen Niederschläge werden bei Katarrhen bisweilen sehr reichlich. Die Nubecula und das daraus darstellbare Harnmucoid stammen nicht aus den Nieren, sondern aus den tieferen Harnwegen. Mörner[3]) fand es auch in der Blase, also nicht allein in der männlichen Harnröhre. Zu ihrer mikroskopischen Untersuchung werden sie am besten nach dem Vorschlag von Lüthje[4]) mittels einer

[1]) Gasis, Deutsche med. Wochenschr. 1910. Nr. 29.
[2]) Königstein, Wien. klin. Wochenschr. 1910. Nr. 10.
[3]) K. Mörner, Skandinav. Arch. f. Phys. 6. 332. 1895.
[4]) Lüthje, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 74. 1902.

Digitized by Google

Pipette herausgefischt. Im nativen Präparat ist diese wolkige, fast durchsichtige Substanz ohne deutliche Konturen nur schwer zu beobachten. Nach Essigsäurezusatz trübt sie sich körnig. Die Färbung derselben im feuchten Zustand mit Methylenblau oder mit Ehrlichschem Triacid gibt schöne Bilder. Man sieht, dass in dem Schleimsediment noch Erythrocyten, Leucocyten, Epithelien, Krystalle oder amorphes Uratsediment und Bakterien, zuweilen auch hyaline und gekörnte Cylinder eingebettet sind.

Mörner sammelte die Nubecula von einer grossen Menge von Harnen und konnte daraus eine durch Essigsäure fällbare Mucinsubstanz, einen von ihm als typisches Harnmucoid bezeichneten Körper gewinnen. Ein Teil des Harnmucoids löste sich in Wasser, konnte daher auch in der Harnlösung aufgefunden werden. Das Harnmucoid enthielt keinen Phosphor, war also keine Nukleinsäureverbindung; es hatte keine gepaarte Schwefelsäure, war demnach kein Chondroitin-Schwefelsäure-Körper. Es gab die Farbenreaktionen der Eiweissstoffe, die Biuret- und Xanthoproteinreaktionen. Mit Millons Reagens trat ein Niederschlag auf, der sich beim Kochen rot färbte; die Flüssigkeit blieb ungefärbt. Bei der Reaktion von Adamkiewicz mit konzentrierter Essigsäure und Schwefelsäure wurde beim Erwärmen eine rosenrote Farbe erhalten. Gegenüber mehreren Eiweissfällungsmitteln verhielt es sich negativ. Durch schwache Ammoniaklösung wurde es leicht in eine lösliche Form übergeführt. Nach Reinigung ergab die Analyse C 49,40%, N 12,74% und S 2,30%; das Verhältnis N:C war gleich 1:3,86. Im übrigen war die Zusammensetzung nicht konstant.

e) Cylindroide.

(Tafel V. Fig. 4.)

In vereinzelten Exemplaren oder in grösserer Menge erscheinen im Sedimentbild normaler oder krankhaft veränderter Harne längere und kürzere schleifen- und bandartige Gebilde, die öfter gefaltet und geknickt sind und auf ihrer Fläche eine zarte Längsstreifung erkennen lassen. Sie sind transparent und bestehen in ihrem Grundstoff ebenfalls aus Schleimsubstanzen. Sie unterscheiden sich von den hyalinen Cylindern in günstigen Fällen, wenn sie eine beträchtliche Länge und die streifige Struktur aufweisen, auf den ersten Blick, in weniger günstigen Bildern dagegen bedarf es einiger Anhaltspunkte zu ihrer differentiellen Trennung.

Die Cylindroide, unter welchem Namen diese Gebilde seit Thomas[1]) gewöhnlich zusammengefasst werden, sind länger und

[1]) Thomas, Arch. f. Heilkunde. 1870. S. 130 u. 449.

Digitized by Google

schmäler als die gewöhnlichen Cylinder, mit feiner längsgestreifter Zeichnung und längslaufenden Spalten. An ihrem Ende sind sie oft gabelig geteilt. Auf Zusatz von Essigsäure erfolgt eine grobkörnige Trübung. Erschwerend für die Differentialdiagnose ist der Umstand, dass die Cylindroide wie die echten Cylinder oft alle möglichen Auflagerungen von organisierten und nicht organisierten Sedimenten führen.

Die Cylindroide sind renalen und extrarenalen Ursprungs. Für die Möglichkeit der ersteren Abstammung sprechen Befunde von echten Nierencylindern, die in Cylindroide übergehen, sowie deren Nachweis im Ureterharn (Lüthje, Boros[1])). Die extrarenalen Cylindroide finden sich häufig bei Blasenkatarrhen.

f) Urethralfäden.

Bei Reizungen der männlichen Harnröhrenschleimhaut sieht man häufig zarte, opake oder durchscheinende Fäden im Harn herumschwimmen. Sie finden sich bei Katarrhen der Urethra, namentlich bei chronischer gonorrhoischer Urethritis in grösserer Anzahl. Bekannt ist der Gehalt des Morgenharns an diesen „Tripper"fäden. Zu ihrer Untersuchung verwendet man die erste Harnportion.

Auch andere Affektionen führen zu ähnlichen, wenn auch nicht so ausgebildeten Schleimfäden im Harn, die aus der Urethra stammen. So habe ich bisweilen nach Kathetereinführungen bei männlichen Individuen im darauffolgenden spontanen Urin diese Schleimgebilde beobachtet. Auch bei sexueller Neurasthenie kommen sie vor. Sie unterscheiden sich von den Cylindroiden nicht wesentlich, sie sind meist breiter, plumper, es fehlen die gabeligen Abzweigungen, wie dies durch den verschiedenen Ursprungsort verständlich ist. Auf den Urethralschleimfäden sieht man Auflagerungen von roten und weissen Blutkörperchen, von Spermatozoen und bei Gonorrhoe von Gonokokken.

3. Harncylinder.

(Tafel V. Fig. 1, 3, 5, 6.)

Die echten Harncylinder stammen ausnahmslos aus den Nieren und sind daher wertvolle Merkmale für die Beurteilung der in den Nieren sich abspielenden Prozesse. Wobei aber vom klinischen Standpunkt betont werden muss, dass die Annahme, die Anwesenheit von Cylindern sei ein Zeichen von Nierenentzündung, vielfach eine übertriebene war, da dieselben auch von ganz normalen, zum mindesten nicht Eiweiss sezernierenden Nieren abgesondert werden können. Sie

[1]) Boros, Med. Klinik 1912. Nr. 11.

Digitized by Google

sind teils homogen (hyaline und Wachscylinder) und führen Auflagerungen von Zellen, von Zelldetritus, von Pigment und von anorganischem Sediment oder sie haben ein durchwegs gekörntes, wie bestäubtes Aussehen (granulierte Cylinder); endlich gibt es cylinderartig angeordnete Gebilde aus Epithel-, aus Blutzellen, aus Bakterien und aus Uratniederschlägen zusammengesetzt.

Die Cylinder sind walzenförmig und stellen einen Abguss der Harnkanälchen vor, aus denen sie stammen. Dementsprechend sind sie bald schmäler, bald breiter, gerade oder leicht gewunden. Oft zeigen sie an einzelnen Abschnitten spiralige Windungen. Dies zwingt jedoch nicht zu der Annahme, dass die betreffenden Gebilde aus den gewundenen Harnkanälchen herstammen. Ihre Länge ist nicht gleich, im allgemeinen aber sind sie kürzer als die Cylindroide.

Unter den Harncylindern haben namentlich die glasigen hyalinen Cylinder frühzeitig das Interesse beherrscht. Im Zusammenhang mit der Wichtigkeit ihres Auftretens steht die Frage nach ihrer Entstehung. Es sind zunächst zwei Möglichkeiten vorhanden. Die homogenen glasigen Cylinder verdanken ihre Entstehung entweder Substanzen, die auf dem Wege der Transsudation oder Exsudation aus dem Blute in die Harnkanälchen gelangt sind, oder sie setzen sich zusammen aus umgewandeltem Protoplasma, aus dem Sekret oder den Zerfallsprodukten der Nierenepithelien. Zugunsten der ersteren, der Fibrinnatur dieser Elemente wurde die Färbbarkeit mit Weigertschem Anilinwasser-Gentianaviolett und Altmannschem Säurefuchsin angeführt (O. Israel[1]), Ernst[2]), Farbenreaktionen, die nicht ausschliesslich für Fibrin charakteristisch sind (Lubarsch[3])). Ausserdem wurden von Ribbert[4]) künstlich an Kaninchennieren Transsudatcylinder dargestellt und von Török und Pollak[5]) die Beobachtung angeführt, dass bei experimenteller Stauung der Nierengefässe schon nach sehr kurzer Zeit homogene Cylindersubstanz in den Nierenkanälchen sichtbar wird.

Danach wären die hyalinen Cylinder geronnenes und homogenisiertes Bluteiweiss. Als Bedingung für die Richtigkeit dieser Gerinnungshypothese musste das Begleitsymptom der Albuminurie gefordert werden. Für gewöhnlich trifft diese Bedingung auch zu. In einer nicht zu unterschätzenden Anzahl von Untersuchungen hingegen wurde bei ausgesprochener Cylindrurie Fehlen jeder Eiweissausscheidung beobachtet. Es handelte sich um Erkrankungen der verschiedensten Art, so um toxische, infektiöse, febrile Prozesse (Kossler[6]), Klineberger und Oxenius[7]), Craandyk[8]), Mixa[9])), um Fälle mit Salicylbehandlung (Lüthje[10])), mit Gallenstauung, Koprostase (Nothnagel[11]), Wallerstein[12])), um Fälle nach

[1]) O. Israel, Virch. Arch. **123**. 310.
[2]) Ernst, Zieglers Beitr. z. path. Anat. **12**. 553.
[3]) Lubarsch, Zentralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. 1893. 4. Nr. 11.
[4]) Ribbert, Zentralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. 1893. 4. Nr. 6.
[5]) Török und Pollak, Arch. f. exper. Path. **25**. 87.
[6]) Kossler, Berl. klin. Wochenschr. 1895. Nr. 15 u. 16.
[7]) Klineberger und Oxenius, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **85**. 1905. Heft 3—4.
[8]) Craandyk, Ref. Münch. med. Wochenschr. 1902. S. 938.
[9]) Mixa, Zentralbl. f. inn. Med. 1908. S. 426.
[10]) Lüthje, Arch. f. klin. Med. 1902. **74**.
[11]) Nothnagel, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **12**. 326. 1874.
[12]) Wallerstein, Berl. klin. Wochenschr. 1901. S. 21; Zeitschr. f. klin. Med. **58**. 296; Berl. klin. Wochenschr. 1902. Nr. 14.

Digitized by Google

Alkoholgenuss (Glaser[1])), nach Sportsübungen und um gesunde Menschen (Benzoldt[2]), Emerson[3]), Max Gentzen[4]), Beck[5]), Christensen[6]) u. a.).

Für diese Cylindrurien war ein Bluteiweissaustritt mit nachträglicher Gerinnung nicht recht wahrscheinlich.

Dagegen wurden hier degenerative Veränderungen in den Epithelien der Harnkanälchen gesehen, sowie Übergangsbilder von Nierenepithelien zu hyalinen Massen beobachtet, so zwar, dass die Epithelien zum Teil ihre zellige Natur noch erkennen liessen, zum Teil aber das Bild eines homogenen Cylinderabschnittes vorlag (Langhans[7]), Lubarsch[8]), Lüthje). Es hat den Anschein, als ob die hyalinen Cylinder im eiweissfreien oder eiweissarmen Harn auf ein Produkt des sezernierenden Epithels oder auf eine Metamorphosierung des Plasmas abgestossener Zellen zurückzuführen seien. Ob dies die einzige Entstehungsweise auch bei bestehender Albuminurie ist, lässt sich mit Bestimmtheit nicht entscheiden und ist auch unwahrscheinlich. Jedenfalls muss aber betont werden, dass die Schwere der Albuminurie in keinem Zusammenhang steht mit der Anzahl der auftretenden Cylinderelemente. Mit Recht wird hervorgehoben, dass bei der Chylurie, wo beträchtliche Eiweissausscheidung mit ausgesprochener Tendenz zur Gerinnung besteht, fast niemals Cylindrurie beobachtet wurde. Bei fleissigem Durchmustern von Harnsedimenten mit reichlichen Cylindern findet man gelegentlich Bilder, die deutlich den Übergang eines Epithelcylinders in einen granulierten oder eines granulierten in einen hyalinen Cylinder demonstrieren.

Hyaline Cylinder finden sich im Sediment vieler gesunder Menschen, namentlich wenn man die Nubecula untersucht und ganz frische Harne vornimmt. Diese zarten durchsichtigen Gebilde haben meist parallele Konturen, sind farblos und glasig, so dass auch das geübtere Auge sie leicht übersieht, oder sie sind leicht gelb gefärbt. Es empfiehlt sich durch Färbung mit Methylenblau, Bismarckbraun, Hämatoxylin, Jodtinktur etc. die hyalinen Cylinder deutlicher hervortreten zu lassen. Mit alizarin-sulfosaurem Natron färben sie sich gelb oder schwach violett, mit Ehrlichschem Triacid violett. Nach den Untersuchungen von Rovida[9]) sind sie in verdünnten Mineralsäuren gut löslich. Ihr chemischer Charakter ist noch nicht sichergestellt.

Die Wachscylinder sind gleichfalls homogen, meist kürzer, breiter und mit scharfer Bruchfläche; sie haben einen matten Glanz und sind gelb bis braun gefärbt. Gegen chemische Agentien verhalten sie sich ziemlich resistent. Auf Jodzusatz sollen sie sich zuweilen mahagonibraun, mit Methylviolett rot färben. Infolge dieser Farbenreaktionen wurden sie für „Amyloid"-Cylinder gehalten. Eine ausgesprochene Amyloidfärbung dieser Elemente wurde jedoch in den

---

1) Glaser, Deutsch. med. Wochenschr. 1891. S. 1193.
2) Benzoldt, Münchn. med. Wochenschr. 1893. Nr. 42.
3) Emerson, John Hopkins Hosp. med. Soc. 1905. Nov.
4) Gentzen, Zentralbl. f. inn. Med. 1905. S. 1102.
5) Beck, Wiener klin. Wochenschr. 1908. S. 520.
6) Christensen, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 1910. **98**. 379.
7) Langhans, Virchows Arch. 1879. **76**.
8) Lubarsch, Zentralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. 1893. **4**. Heft 6.
9) Rovida, Moleschott, Untersuchungen zur Naturlehre d. Menschen u. d. Tiere. **11**. 1. 182. 1867.

Digitized by Google

seltensten Fällen beobachtet. Neben anderen schweren und chronischen Nierenerkrankungen finden sich die Wachscylinder auch bei Amyloidentartung der Nieren.

Epithelcylinder finden sich vorwiegend bei desquamativen Entzündungen in den Nieren und gelten als Charakteristikum der parenchymatösen Nephritis. Es sind Gebilde mit reichlicher Epithelauflagerung auf einer hyalinen Grundsubstanz, oder sie stellen ganze Epithelschläuche vor, die sich losgelöst haben und weggeschwemmt wurden. Die Epithelzellen sind mehr oder weniger fettig entartet.

Wie die Epithel-, so können auch die Blutzellen hyalinen oder gekörnten Cylindern aufgelagert sein, oder cylinderförmig angeordnete Anhäufungen von roten oder weissen Blutkörperchen bilden, die miteinander verklebt sind. Die roten Zellen sind oft zu Blutschatten ausgelaugt oder zu Pigmentschollen zerfallen (Pigmentcylinder), die weissen Blutzellen zu grösseren oder kleineren Fetttröpfchen umgewandelt (Fetttröpfchencylinder).

Die granulierten Cylinder setzen sich aus dicht aneinander gelagerten, gröberen und feineren Körnchen zusammen, die hauptsächlich von degenerierten Epithelzellen herstammen. Wie das stärkere Lichtbrechungsvermögen und die Fettfärbungen zeigen, stehen diese Körnchen zum Teil den Fetttröpfchen sehr nahe; der grösste Teil der Körnchen jedoch besteht aus Eiweisssubstanz. Die granulierten Cylinder nehmen im hämoglobinhaltigen Harn eine mehr bräunliche, im ikterischen Harn eine exquisite, grünlich-gelbe Färbung an. Bei Zusatz von Alkali verändern sich die Körnchen nicht, zum Unterschied von Uratcylindern, deren Körnchen sich sofort auflösen.

Neben diesen Cylindern findet man im Sediment oft Gebilde, die den granulierten Cylindern im Aussehen sehr nahe stehen. Auch sie stammen aus den Nieren und kommen dadurch zustande, dass nichtorganisiertes Sediment schon innerhalb der Nierenkanälchen zur Ausscheidung gelangt, das Lumen der Tubuli ausfüllt und vom nachdrängenden Harn mitgerissen wird. Das Material dieser Mineralcylinder besteht meist aus Ammoniumurat und findet sich häufiger bei Säuglingen, deren Nieren von Harnsäureinfarkten durchsetzt sind (Uratcylinder).

Die sogenannten Bakteriencylinder kommen bei septisch-embolischer Nephritis der Nieren, bei Pyelonephritis vor und setzen sich aus zusammengebackenen Bakterienleibern zusammen. Diese Cylinder haben nur Bedeutung, wenn sie in ganz frisch gelassenem Harn beobachtet werden, da sich auch im Uringlas spontan Mikrokokkenhaufen in cylindrischer Anordnung bilden können.

Ausser den hier aufgezählten Harncylindern gibt es Übergangs- und Mischformen nach jeder Richtung.

Digitized by Google

4. Harn-Mikroorganismen.

Untersuchungsmethodik.

Zur Untersuchung des Harns auf Mikroorganismen wird man sich des mikroskopischen oder des Kulturverfahrens bedienen. Für den kulturellen Weg genügt ein Tropfen eines unter aseptischen Kautelen aufgefangenen Harns. Der Gang der Untersuchung hierbei ist in den bakteriologischen Spezialbüchern detailliert beschrieben.

Für die Untersuchung mit dem Mikroskop ist es in den meisten Fällen notwendig, den Harn zu sedimentieren. Am geeignetsten ist auch hier eine scharfgehende Centrifuge, die es zulässt, frischen Harn in kurzer Zeit auszuschleudern und damit seiner Zersetzung und dem Wuchern aus der Luft in den Harn gelangter oder in demselben schon anwesender Keime zu begegnen. Es ist darauf zu achten, dass die Centrifugierröhrchen steril sind und dass beim Hantieren keine Verunreinigung unterläuft. Lässt man das Sediment im Spitzglas sich spontan absetzen, so empfiehlt sich neben der Aufbewahrung in der Kälte noch der Zusatz von keimtötenden, im übrigen aber indifferenter Substanzen, wie Chloroformwasser, Thymollösung, Kampfer oder etwas Borsäure in Substanz.

Im klaren, sedimentarmen Harn gelingt das Ausschleudern der Bakterien besser, wenn man durch Zusatz von zwei Teilen Alkohol das spezifische Gewicht der Flüssigkeit herabsetzt (Strassburger[1])).

Für die Färbung kommen alle jene Anilinfarbstoffe und Differenzierungsflüssigkeiten in Betracht, die auch anderweitig zur Darstellung der verschiedenen Mikroorganismen in Verwendung stehen. Eine rasche Orientierung gewährt die Färbung eines Sedimenttropfens, dem man unter dem Deckglas einen Tropfen der Löfflerschen Methylenblaulösung zufliessen lässt.

Für gewöhnlich verwendet man Trockenpräparate. Etwas von dem Sediment wird auf einem Objektträger oder Deckgläschen an der Luft eingetrocknet, dieses dreimal durch die Flamme gezogen und so zur spezifischen Färbung verwendet. Für gewöhnlich wird das Präparat mit Löfflerschem Methylenblau oder mit einer Karbolfuchsinlösung (Fuchsin 1,0, 5 %iges Karbolwasser 100,0) gefärbt, der überschüssige Farbstoff mit Wasser abgewaschen, das Präparat mit Filtrierpapier getrocknet und in Canadabalsam eingeschlossen.

Tuberkelbazillen werden in folgender Weise behandelt (Ziehl-Neelsen):

---

[1]) Strassburger, Münch. med. Wochenschr. 1900. Nr. 16.

Digitized by Google

Auf dem Objektträger oder in einem Kupferschälchen 1—5 Minuten langes Färben in bis zum Aufkochen erwärmter Lösung von Fuchsin 1,0, Alkohol 10,0, Acid. carbol. conc. 5,0, Aqua dest. 100,0. Entfärben in 5 % iger Schwefelsäure oder 15 % iger Salpetersäure, wobei das ganze Präparat mit Ausnahme der säurefesten Tuberkelbazillen entfärbt wird. Auswaschen in 70 % igem Alkohol. Kontrastfärbung mit wässeriger Methylenblaulösung $1^1/_2$—2 Minuten. Abwaschen mit Wasser. Trocknen zwischen Filtrierpapier. Einbetten in Canadabalsam. Die Tuberkelbazillen sind rot, alles andere blau gefärbt.

Verwechslungen können speziell im Harn mit den ebenfalls säurefesten Smegmabazillen vorkommen. Die letzteren haben die Eigenschaft, gegen Alkohol weniger resistent zu sein als die Tuberkelbazillen. Darauf beruht das differente Darstellungsverfahren. Es wird nach der Karbolfuchsinfärbung die Differenzierung 10 Minuten lang in einer Lösung Salzsäure conc. 3,0, Alcohol absol. 100,0 vorgenommen. Die Kontrastfärbung erfolgt in einer Mischung von konzentrierter alkoholischer Methylenblaulösung in Wasser aa.

Nach Gasis haben die Tuberkelbazillen auch die Eigenschaft der Alkalifestigkeit, was ebenfalls bei der Differentialdiagnostik in Betracht kommt.

Das von Uhlenhuth angegebene Homogenisierungsverfahren hat Finkelstein[1]) auch für den Harn scheinbar mit gutem Erfolg angewandt. Harnsediment wurde in einem ca. 20 % igen Antiformingemisch (mit physiologischer Kochsalzlösung) aufgenommen, mit einem Glasstab gut durchgerührt, 2 Stunden bei 37° gehalten und energisch centrifugiert, der Bodensatz wurde zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung durchgewaschen, auf einen Objektträger gebracht, eventuell mit einem Tropfen einer 5 % igen Hühnereieiweisslösung fixiert und nach den angeführten Methoden gefärbt.

Für die Darstellung von Gonokokken empfiehlt es sich, die fixierten Präparate in kaltgesättigter, wässeriger Neutralrotlösung zu färben.

Zur Differenzierung von den typischen Eiterkokken dient das Verfahren nach Gram.

Das fixierte Präparat wird 2—5 Minuten in einer Anilinwasser-Gentianaviolettlösung vorgefärbt.

Zur Herstellung derselben werden 10 ccm Anilinöl mit 100 ccm Wasser gründlich geschüttelt, die milchige Flüssigkeit durch ein angefeuchtetes Filter klar filtriert und dem Filtrat ca. 10 ccm einer konzentrierten, alkoholischen Gentianaviolettlösung hinzugefügt.

Die Lösung wird vor dem Gebrauch filtriert; sie hält sich nicht lange.

---

[1]) J. A. Finkelstein, Berl. klin. Wochenschr. 1910. S. 1059.

Digitized by Google

Hierauf wird das Präparat ein bis anderthalb Minuten in eine Lösung von Jod 1,0, Jodkali 2,0, Wasser 300,0 übertragen. Hier nimmt es eine tiefschwarze Färbung an.

Dann wird es in Alkohol entfärbt, bis die schwarze Farbe verschwunden und das Präparat blassgrau geworden ist.

Trocknen, Einbetten.

Die nach Gram positiven Mikroorganismen sind tiefblau gefärbt, das übrige Sediment ist entfärbt. Zur nachträglichen Kontrastfärbung ist Bismarckbraun oder eine Fuchsinlösung geeignet. —

Der frischgelassene Harn vom gesunden Menschen ist selten keimfrei. Wenn man auch annehmen muss, dass er steril von den Nieren ausgeschieden wird, so bietet der Aufenthalt in der Blase, namentlich aber der Durchtritt durch die Urethra, sowie die Berührung mit dem Präputium und der Vagina hinreichend Gelegenheit zur Infektion desselben. Um keimfreien Harn aufzufangen, ist die Verwendung des Katheters unbedingt indiziert. Auch dabei können Keime aus der Harnröhre in die Blase verschleppt werden und im Harn erscheinen. In einem Urin, der eine zeitlang an der Luft gestanden hat, findet man eine Fülle der verschiedenartigsten Mikroorganismen.

Die Mikroorganismen des Harns gehören teils den für den Menschen nicht pathogenen, teils den pathogenen Kleinwesen an.

A. Nichtpathogene Mikroorganismen.

Von diesen werden im Harn beobachtet:

1. Schimmel- und Sprosspilze.

(Tafel VI. Fig. 2.)

Die Fadenpilze gelangen meist nach der Entleerung des Harns in denselben. Wenn der Harn zuckerhaltig ist, so vermehren sie sich enorm rasch und bilden schliesslich eine mehr oder minder dicke weissliche Schichte, die einen eigentümlichen, schimmlich-moderigen Geruch verbreitet. Nach v. Jaksch ist diese Erscheinung geradezu ein Hinweis auf eine bestehende Glykosurie. Mikroskopisch findet man ein Gewirr von Pilzmycelien, teilweise mit ihren Sporen, dazwischen Hefezellen neben Bakterien und amorphem Sediment.

Ein sehr häufig zu beobachtender Schimmelpilz ist Penicillium glaucum.

Sehr selten kommt es vor, dass die Verunreinigung des Harns mit Sprosspilzen schon in der Blase erfolgt, wo sich infolgedessen oder durch andere Erreger mitbedingt eine Gärung des diabetischen Harnes einstellt.

Einen solchen Fall beschrieb Senator. Im Harn fand sich eine grosse Menge von Hefepilzen (Torula cerevisiae), die wahre Alkoholgärung bewirkt hatten.

Digitized by Google

Die Hefezellen sind farblose, elliptische Zellen, die entweder einzeln oder in rosenkranzartig angeordneten Ketten auftreten.

Soorpilz im diabetischen Harn beobachtete v. Frisch[1]). Der Pilz stammte aus der Blase und wurde in Form hanfkorngrosser, rundlicher, weisser Gebilde entleert. Dieselben bestanden aus Mycelfäden und Hefezellen. Als Soor erwies sich diese Pilzform nach eingehenden Züchtungsversuchen. Der Soorpilz färbt sich nach Gram.

2. Spaltpilze.

Der Micrococcus ureae tritt früher oder später in jedem Harn auf. Er ist mit ein Erreger der sogen. ammoniakalischen Harngärung und bildet nach ausgedehnter Vermehrung ein Häutchen an der Harnoberfläche. Er erscheint in der ersten Zeit seiner Entwickelung als sehr kleines, meist aus zwei Gliedern bestehendes kurzes Stäbchen, deren einzelne Individuen mit den stärksten Vergrösserungen getrennt wahrgenommen werden können. Nach einigen Tagen schon sieht man einen Haufen sehr kleiner glänzender Körnchen, die in eine schleimige, den Haufen zusammenhaltende Substanz eingebettet sind. In diesem Stadium spricht man von sogen. Zooglöahaufen.

Die Sarcina urinae ist kleiner als die Magensarcine. Sie wird seltener beobachtet (Barlow[2]) fand allerdings bei 65 Fällen von Bakteriurie 22 mal Sarcine) und erscheint dann in Aggregaten von Zellen, die zu 8, 64, 512 usw. in regelmässig gestalteten weissen Würfeln beieinander liegen und sich als solche deutlich erkennen lassen, wenn man sie unter dem Mikroskop ins Rollen bringt. Am schönsten sind sie in frischem Präparat zu sehen. Bei Tinktion überfärben sie sich leicht, weshalb am geeignetsten Bismarckbraun verwendet wird.

Der Milchsäure-Bazillus, der sich besonders gern im stagnierenden Mageninhalt entwickelt, wurde im Harnsediment eines Magencarcinomkranken, der eine Metastase im Nierenbecken hatte, gefunden (Rudinger[3])), und ausserdem in grossen Massen bei zwei ätiologisch unklaren Fällen, wo sie neben Leukocyten und Erythrocyten auftraten (Latzel[4])). Die Milchsäurebazillen sind längere oder kürzere schlanke Stäbchen, die sich nach Gram färben.

Viermal wurde aus menschlichem Harn ein Bakterium als Erreger der sogenannten schleimigen Garung gezüchtet. Der ausfliessende Harn war glycerinähnlich in der Consistenz von saurer Reaktion, fadenziehend mit kaum merklichen Spuren von Serumalbumin und Mucin und mit reichlich Leukocyten im Sediment. Aus dem Urin wurde ein kurzes Stabchen gezüchtet, das in einer Schichte von Schleim eingebettet lag. Am besten färbte es sich mit Ziehl's

[1]) v. Frisch, Wien. klin. Wochenschr. 1898. Nr. 39.
[2]) Barlow, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 59. 347. 1897.
[3]) Rudinger, Zentralbl. f. inn. Med. 1904. Nr. 5.
[4]) Latzel, Wien. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 49.

verdünnter Karbolfuchsinlösung, mit Löffler's Methylenblau gab es undeutliche Bilder, nach Gram war es nicht färbbar, die Pathogenität für Tiere und Menschen war kaum nennenswert. Der Erreger erhielt den Namen Glischrobakterium (Rothmann[1]).

B. Pathogene Mikroorganismen.

(Tafel VI. Fig. 3, 4, 5, 6.)

Auf den Befund von pathogenen Mikroorganismen im Harn ist nur Wert zu legen, wenn derselbe bei Anwendung aller Vorsichtsmassregeln, die eine interkurrierende Verunreinigung von aussen ausschliessen, im katheterisierten Harn gemacht wurde. Die bakteriologischen Untersuchungen des Urethralsekretes gesunder Menschen haben gelehrt, dass gewisse Mikroben, namentlich Staphylokokken und Bacterium coli fast ständige Bewohner besonders des unteren Abschnittes der Harnröhre sind, ohne jedoch klinisch in Erscheinung zu treten.

Die mit dem frischen Harn spontan ausgeschiedenen Bakterien können verschiedenen Ursprungs sein.

Sie stammen entweder aus den Nieren und den tieferen Harnwegen oder sie sind aus deren Nachbarschaft hereingewandert. Dies geschieht im Anschluss an durchgebrochene abszedierende oder käsige und an maligne Wucherungsprozesse; oder, und in diesem Falle kommt insbesondere der Darm in Frage, der Durchtritt geschieht direkt durch die Gewebe. Die Selbstinfektion der Harnblase vom Darm aus spielt eine wesentliche Rolle (Posner[2]), Wreden[3])). Bei einer Reihe von Bakteriurien ist die Ätiologie nicht sicher zu stellen. Sie sind als idiopathische Bakteriurien zusammengefasst worden (v. Jaksch[4]), Barlow). Zum Teil machen sie gar keine Krankheitserscheinungen (Schottelius und Reinhold[5])).

Die Frage, ob auf dem Blutwege über die Nieren Mikroorganismen in den Harn gelangen, hat immer grosses Interesse erregt; ihre Beantwortung ist von Bedeutung bei Beurteilung des Bakterienbefundes im Harn.

Bei infektiösen Allgemeinerkrankungen werden mit dem frischen Urin Bakterien ausgeschwemmt, deren Auftreten und Verschwinden hier und da zu der betreffenden Erkrankung in einem innigen Zusammenhange steht. Es hat sich gezeigt, dass in solchen Fällen meist die Niere als Durchtrittspforte der Kleinwesen vom Blut aus in das harnleitende System zu betrachten war. Während nun bei intakter Nierenfunktion die

---

[1]) Rothmann, Zentralbl. f. Bakteriol. 37. 491. 1909.
[2]) Posner, Vereinsbeil. d. deutsch. med. Wochenschr. 1895. Nr. 5. S. 28.
[3]) Wreden, Zentralbl. f. Chir. 1893.
[4]) v. Jaksch, Klin. Diagn. 5. Aufl. 1901. S. 558.
[5]) Schottelius und Reinhold, Zentralbl. f. klin. Med. 1886. S. 635.

Digitized by Google

Mikroorganismen von dem Nierenfilter zurückgehalten werden, so gelingt dies nicht, wenn die Nieren geschädigt sind. Die Glomerulusmembran zeigt sich in solchen Fällen nicht nur für Bakterien, sondern auch für Bluteiweiss durchlässig. Daher beobachtet man in solchen Fällen von Bakteriurie meist auch Albuminurie (Wissokowitsch[1]), Mannaberg[2]), v. Jaksch[3])).

Der Harn ist bei bestehender Bakteriurie trüb und von einer besonderen Opaleszenz, wie man sie an in Bouillon gezüchteten Bakterienkulturen beobachtet. Die Trübung charakterisiert sich ausserdem dadurch, dass sie weder auf Erwärmen, noch auch Säurezusatz verschwindet. Auch nach mehrfachem Filtrieren durch gewöhnliches Filtrierpapier wird das Filtrat nicht vollständig klar. Es gelingt dies erst beim Durchsaugen der Flüssigkeit durch ein Chamberland-Tonfilter.

Ein Tropfen des trüben Harns oder seines Sedimentes mikroskopisch betrachtet, lässt die bakterielle Ursache der Trübung mit Sicherheit erkennen.

Von den für die menschliche Pathologie in Betracht kommenden Bakterien wurden durch das mikroskopische oder Kulturverfahren bisher sichergestellt: das Bacterium coli, das Bacterium typhi, das Bacterium vulgare (Proteus vulgaris), der Friedländersche Kapselbacillus, der Tuberkelbacillus, der Rotzbacillus, der Pestbacillus, Recurrensspirillen, die Eiterkokken (Streptococcus, Diplococcus, Staphylococcus aureus, albus), der Gonococcus und der Actinomycespilz.

Das Bacterium coli findet sich im Harnsediment relativ häufig, zumeist dürfte es aus dem Darm stammen. Es wurde bei den verschiedensten Erkrankungen im Sediment nachgewiesen (v. Frisch[4]), Barlow[5]), Kraus[6]) u. a.).

Oft findet es sich in Reinkultur. So bei bestehender Bakteriurie, in Begleitung einer Urethritis (Bonn[7])) oder einer Cystitis (siehe Abbildung Taf. VI, Fig. 3), wie ich eine solche beobachtet habe. Im Blute waren keine Colibakterien und keine spezifische Agglutinationsreaktion nachweisbar. Schnitzler[8]), v. Frisch[9]) fanden bei Pneumaturie das Bacterium coli als Erreger der Gasbildung.

Es ist ein kurzes, schlankes Stäbchen, das meist einzeln oder zu zweien, zuweilen auch in Ketten auftritt (s. Taf. VI, Fig. 3). Es färbt sich

1) Wissokowitsch, Zeitschr. f. Hygiene. 1. 3. 1886.
2) Mannaberg, Zeitschr. f. klin. Med. 18. 223. 1891.
3) v. Jaksch, l. c. S. 358.
4) v. Frisch, Wien. klin. Wochenschr. 1898. Nr. 39.
5) Barlow, l. c.
6) Kraus, Wien. klin. Wochenschr. 1895. Nr. 26.
7) Bonn, Prag. med. Wochenschr. 1898. S. 208.
8) Schnitzler, Intern. klin. Rundschau. 1894. Nr. 8 u. 9.
9) v. Frisch, l. c.

Digitized by Google

leicht mit Anilinfarbstoffen. Nach Gram wird es entfärbt. Entscheidend für die Diagnose ist erst das Kulturverfahren.

Typhusbazillen wurden im Harnsediment von Typhuskranken des öfteren gefunden. Karlinski[1]) sah sie schon am dritten Krankheitstage auftreten. Nach Vas[2]) beginnt die Typhusbakteriurie gewöhnlich in der zweiten oder dritten Woche und dauert drei bis fünf Wochen. Schichhold[3]) fand den Eberthschen Bacillus noch während der Rekonvaleszenz im Harn. Meist erscheint in Begleitung desselben Albuminurie und Cylindrurie, sowie die Ausscheidung von Eiterzellen. Doch wurden auch Fälle ohne klinisch nachweisbare Veränderungen der Nieren beobachtet (Vas). Die Ausscheidung von Bacillen ist oft enorm, indem bis zu 100 Millionen im ccm enthalten sind. Der Harn zeigt dann die oben beschriebene auffallende Trübung.

Der Typhusbacillus ist ein 1—2 μ langes, plumpes Stäbchen mit leicht abgerundeten Enden. Von den ihm nahestehenden Bakterien der Typhus-Coligruppe ist er durch seine Form und seine Färbbarkeit nicht zu unterscheiden, wohl aber im Kulturverfahren. Von der Paratyphusgruppe gilt dasselbe. Sowohl Paratyphus A und B ist im Harn gefunden worden. Selbstverständlich ist hier nur das Kulturverfahren entscheidend.

Grosse diagnostische Bedeutung besitzt auch der Nachweis von Tuberkelbazillen im Harn. Er sichert bei entsprechenden Begleitsymptomen die Erkenntnis eines tuberkulösen Prozesses der Harnwege. Meist handelt es sich um geschwürige und nekrotisierende Prozesse. Beim Mann muss auch Tuberkulose der Genitalsphäre (Prostata, Hoden) in Betracht gezogen werden. Bei Lungentuberkulose mit intakten Nieren enthält der Harn keine Bazillen (Maragliano[4])), dagegen fand Philipowicz[5]) Tuberkelbazillen im Urin bei Leuten, die an Miliartuberkulose litten und keine Geschwürsprozesse im Urogenitaltrakt hatten.

Die Tuberkelbazillen lassen sich in der im methodischen Teil angegebenen Weise spezifisch färben und von den ebenfalls säurefesten Smegmabazillen differenzieren. Sie haben gefärbt je nach dem Entwickelungszustand verschiedene Formen, sind bald als dünne schlanke Stäbchen, bald nur als Bruchstücke zu sehen, liegen einzeln oder in Häufchen zu mehreren Exemplaren zusammen. Die Stäbchen sind gerade oder leicht gekrümmt (s. Taf. VI, Fig. 5). Sie sind Gram positiv im Gegensatz zu den Smegmabazillen.

1) Karlinski, Prag. med. Wochenschr. 1890. Nr. 35. u. Nr. 36. S. 437. 452.
2) Vas, Wien. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 13.
3) Schichhold, Arch. f. klin. Med. 64. 505. 1899.
4) Maragliano, Zentralbl. f. inn. Med. 1904. Nr. 42.
5) Philipowicz, Wien. med. Blätter, 1885. S. 683 u. 710.

Digitized by Google

Es wurden alle typischen Eiterkokken im Sediment des Menschen gefunden. Entweder handelte es sich um Eiterungen innerhalb des Harnapparates oder um solche, die in denselben durchgebrochen waren, oder es bestanden infektiöse Prozesse (Erysipel, Nephritis acuta, Gelenkrheumatismus, Endocarditis etc). Endlich finden sie sich auch im Urethralschleim gesunder Menschen (Franz[1]).

Beim Erysipel wurden des öfteren Streptokokken im Sediment gefunden (Cornil et Babes[2]), v. Jaksch, Mannaberg). Mannaberg und Lustgarten[3]) haben bei mehreren Fällen von akutem Morbus Brigthi Streptokokken im Harn nachgewiesen. Barlow hat bei Bakteriurien fünfmal den Staphylococcus, Mircoli[4]) bei akut nephritischen Kindern pneumokokkenähnliche Gebilde gefunden. Singer[5]), Kraus[6]), Chvostek[7]) konstatierten das Auftreten von Streptokokken und von Staphylokokken (aureus und albus) im Harn bei Gelenkrheumatismus, bei Puerperalprozess, bei Pneumonie. Eine spezifisch-ätiologische Beziehung zu den jeweiligen Erkrankungen kommt ihnen nicht zu.

Diese Kokken zeigen das typische Auftreten in Form von Ketten, von Doppelindividuen und von Häufchen. Zu ihrem mikroskopischen Nachweis eignet sich das Verfahren nach Gram. Sie färben sich alle schwarz-blau.

Für die Diagnose der Gonorrhoe ist das Auffinden der Gonokokken entscheidend. Sie finden sich bei frischer Infektion im Sediment der Eiterzellen und bei chronischer Urethritis den Urethral-(Tripper-) Fäden aufgelagert. Im Harnsediment sind sie weniger leicht und reichlich auffindbar als bei direkter Untersuchung eines aus der Urethra ausgedrückten Eitertröpfchens. Ihre Form ist ziemlich charakteristisch. Sie bilden Doppelkokken, deren Einzelglieder mit konkaven Flächen gegeneinander gerichtet sind. Sie erhalten dadurch ein Kaffeebohnen oder Semmeln ähnliches Aussehen (s. Taf. VI, Fig. 4). Sie treten meist intracellulär auf; man sieht oft den Protoplasmaleib eines Leukocyten angefüllt mit Gonokokken. Der Zellkern bleibt frei von ihnen. Nach Zerfall der Zellen werden sie auch extracellulär beobachtet. Sie sind weder säure- noch alkoholfest; nach Gram entfärben sie sich, zeigen aber grosse Affinität zu wässerigen Lösungen von Anilinfarbstoffen.

[1]) Franz, Wien. klin. Wochenschr. 1896. Nr. 28.
[2]) Cornil et Babes, Les bactéries. 2. Ed.
[3]) Mannaberg und Lustgarten, Vierte Jahresschr. f. Dermat. u. Syphilis. 1886. 14. 905.
[4]) Mircoli, Zentralbl. f. Bakt. 3. 336. 1888.
[5]) Singer, Wien. klin. Wochenschr. 1895. Nr. 25. S. 449.
[6]) Kraus, Wien. klin. Wochenschr. 1895. Nr. 26. S. 472.
[7]) Chvostek, Wien. klin. Wochenschr. 1895. Nr. 26. S. 469.

Digitized by Google

Gegen die Gramsche Entfärbungsmethode, als sicheres Kriterium des Gonokokkus, erhebt in neuester Zeit Frank[1]) Einwand. Da zuweilen auch Jugendformen der Eiterkokken die Semmelform nachahmen, so ist die Verschiedenheit im färberischen Verhalten beachtenswert.

Vereinzelt wurden noch andere pathogene Spaltpilze im menschlichen Urin nachgewiesen. So konnte Weichselbaum[2]) aus Blut und Harn von Rotzkranken Rotzbacillen züchten; ebenso gelang Philipowicz der Nachweis im Harnsediment. Es handelt sich um 3—4 μ lange, mässig breite Stäbchen, an denen zuweilen mit Löfflers Methylenblau Polfärbung auftritt. Sie sind nach Gram nicht färbbar.

Bei Rekurrensinfektion wurden während des Fieberanfalles Rekurrensspirillen im Harn gefunden (Kannenberg[3])) und Pestbazillen im Harn von Pestkranken. Nach Albrecht und Ghon[4]) finden sich dieselben im Verlauf der Pesterkrankung besonders reichlich in den Harnwegen, wenn Blutungen oder metastatische Abszesse in den Nieren auftreten. Im Ausstrichpräparat erscheinen die Pestbazillen als kleine plumpe Stäbchen, die Polfärbung zeigen und zwar besonders deutlich nach vorausgegangener Alkoholfixation und nachfolgender Methylenblaufärbung. Hier ist das Mittelstück der Bakterienleiber kaum gefärbt. Sie sind Gram-negativ.

Gelegentlich kann bei Proteusinfektion das Bacterium vulgare eine schwere Cystitis hervorrufen. Im Sediment findet es sich allein oder gemeinsam mit anderen Mikroorganismen. Für die Identifizierung ist die Züchtung unerlässlich.

Auch Cystitiden mit dem Friedländerschen Kapselbacillus als Reinkultur sind nicht allzu selten. Er bildet grosse plumpe Stäbchen, deren jedes mit einer Kapsel versehen ist. Man färbt mit wässerigen Farblösungen, wobei die Kapsel nur schwach mitgefärbt wird (Taf. VI, Fig. 6). Es empfiehlt sich eine Färbung mit Anilinwasser-Methylviolett (2 Minuten) und nachträgliche Differenzierung durch Eintauchen in halbprozentige Essigsäure. Auswaschen in Wasser, Trocknen, Einschliessen. Die Bazillen sind dunkelviolett, die Kapseln hellviolett gefärbt. Sie sind Gram-negativ.

In den seltenen Fällen, bei denen Actinomycose auf den Harnapparat übergreift, können im Harn die Elemente des Actinomycespilzes auftreten (Braatz[5]), Israel[6])). Man untersucht auf Actinomyces-

---

[1]) Frank, Med. Klinik 1910. Nr. 49.
[2]) Weichselbaum, Wien. med. Wochenschr. 1885. Nr. 24. S. 768.
[3]) Kannenberg, Zeitschr. f. klin. Med. 1. 506. 1880.
[4]) Albrecht und Ghon, siehe v. Jaksch l. c. S. 361.
[5]) Braatz, Petersburg. med. Wochenschr. 1888. Nr. 13.
[6]) O. Israel, Chir. Klin. d. Nierenkrankheiten. 1901. S. 266.

Digitized by Google

körnchen oder Actinomycesdrusen. Dieselben bestehen aus einem dichten, netzförmigen Fadengeflecht, an dessen Randpartien kolbenartige Verbreiterungen sichtbar sind. Im ungefärbten Zustand treten diese Gebilde auf Zusatz von etwas Essigsäure oder Kalilauge deutlich hervor. Die Färbung der Actinomycesdrusen gelingt nach der Gramschen Methode.

Bei septisch-embolischen Prozessen der Niere oder bei mykotischen Nierenerkrankungen werden im Harnsediment Kokkenanhäufungen beobachtet, die Gebilde vortäuschen, wie sie als granulierte Cylinder beschrieben werden. Diese grauen, opaken Cylinder zeigen eine ausserordentlich feine und typisch gleichmässige Punktierung. Sie bestehen nur aus Kokken; stellenweise sind ihnen degenerierte Epithelien aufgelagert. Es handelt sich um Kokkencylinder, die aus einer mit Pilzmassen vollständig bedeckten glasigen Grundsubstanz bestehen und die sich bei Sektion der Nieren aus den Nierenpapillen ausdrücken lassen (Martini[1]), Litten[2])).

Im Anschluss an das hier Gesagte soll die baktericide Wirkung des Harnes Erwähnung finden: Jahn[3]) findet im tierischen Harn eine solche. Gegenüber Milzbrandbazillen ist sie stärker als gegen Paratyphus- und Colibazillen. Das wirksame Prinzip ist zum Teil im sauren Harn in den sauren Phosphaten, im alkalischen in den Kalksalzen zu suchen.

Tierische Parasiten.

In tropischen und subtropischen Gegenden, wo die menschlichen Organe weitaus häufiger von tierischen Parasiten durchseucht gefunden werden, wird auch ihr Auftreten im Harnsediment entsprechend häufiger beobachtet.

Die tropische Chylurie, die sich im Verlaufe der Erkrankung mit Filaria sanguinis, einem Fadenwurm, einstellt, veranlasste das Suchen nach den Parasiten-Embryonen; dieselben fanden sich sowohl im Blut als auch im Harn.

Schreiber[4]) beschrieb mikroskopisch kleine Fadenwürmer im Urin einer Kranken. Sie waren drehrund, spindelförmig, im inneren Bau den Ascariden und Oxyuriden gleichend. Die lebenden machten lebhaft schlängelnde Bewegungen. Sie waren aus der Vagina in die Blase gewandert. Er nannte diese Species Rhabditis genitalis.

---

[1]) Martini, Arch. f. klin. Chir. **16**. 157. 1884.
[2]) Litten, Zeitschr. f. klin. Med. **4**. 191. 1882.
[3]) Jahn, Inaug.-Dissert. Giessen 1910.
[4]) Schreiber, Virchows Arch. 1884. **82**. 161.

Digitized by Google

In Ägypten wurden bei Hämaturien als relativ häufiger Befund Eier von Distoma haematobium im Harn gefunden (Bilharz-Krankheit). (Fig. 51.) Dieselben waren teils abgestorben und mit körnig kalkigen Detritusmassen gefüllt oder sie hatten noch einen lebendigen Inhalt, den zum Ausschlüpfen fertigen Embryonenkörper (V. Loos[1]), Rüttimeyer[2])).

Bälz[3]) fand bei einer Japanerin im blutigen, katheterisierten Urin eine der Amoeba coli nahestehende Amoebe. Sie zeigte eine körnige Leibessubstanz mit grossem bläschenförmigen Kern und mit lebhafter Bewegung.

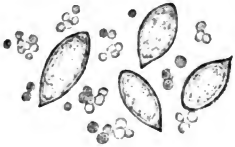


Fig. 51.

Gelegentlich wurde bei Affektionen der Harnwege im Urin ein zur Klasse der Flagellaten gehöriges Protozoon beobachtet, dessen Identität mit Trichomonas intestinalis und vaginalis Marchand[4]) nachgewiesen hat. Diese Protozoen fielen als eigentümliche hyaline Körperchen auf, waren etwas grösser als Leukocyten mit amoeboiden Bewegungen, mit einem in der Ruhe eiförmigen Leib, an dessen Vorderende vier fadenförmige Geisseln von einem Punkte aus entsprangen. Von der Basis der Geisseln verlief an der Seite des Tierchens in der Längsrichtung ein feiner, undulierender Saum (Miura[5]), Marchand, Janowski[6])).

Die Echinococcus-Erkrankung hat zuweilen in den Harnwegen oder in deren Nachbarschaft ihren Sitz, von wo ein Durchbruch in den Harnapparat erfolgen kann. Im Sediment finden sich dann neben den Echinokokkenbestandteilen auch Eiterkörperchen, rote Blutkörperchen etc. Die Echinokokkenblasen gehen oft in beträchtlicher Menge bis zu 100 Stück im Tag ab; sie sind erbsen- bis haselnussgross. Gleichzeitig sieht man auch Tochterblasen mit vollständigem Hakenkranz oder

[1]) V. Loos, Zentralbl. f. Bakt. u. Paras.-Kunde. 1894. **16.** 286.
[2]) Rüttimeyer, Mitteil. aus Kliniken u. med. Inst. d. Schweiz. 1894. **1.**
[3]) Bälz, Berl. klin. Wochenschr. 1883. Nr. 16. S. 234.
[4]) Marchand, Zentralbl. f. Bakt. u. Paras.-Kunde. 1894. **15.** 709.
[5]) Miura, Zentralbl. f. Bakt. u. Paras.-Kunde. 1894. **16.** 67.
[6]) Janowski, Zeitschr. f. klin. Med. 1897. **31.**

Digitized by Google

einzelne isolierte Haken neben Membranfetzen (Mosler[1]), Manasse[2])).

Harnkonkremente.

A. Allgemeines.

Die Harnkonkretionen entsprechen in ihrer Zusammensetzung den im Harnsediment vorkommenden, nicht organisierten Substanzen. Mit Ausnahme von Tyrosin, von Hippursäure, von Bilirubin kann jeder im Abschnitt „Harnsedimente" behandelte Niederschlag zur Steinbildung beitragen. Dementsprechend ist bei der chemischen Untersuchung nachgewiesen worden:

Harnsäure und ihre Salze, Tripelphosphat, phosphorsaurer Kalk und Magnesia, oxalsaurer Kalk, kohlensaurer Kalk, Cholesterin, Cystin, Xanthin und Indigo.

Während die innerhalb der Harnwege ausgefallenen Sedimente dieselben meist anstandslos passieren, stellen sich der Ausscheidung der grösseren Konkremente in den engen Harnleitungen zum Teil unüberwindliche Hindernisse entgegen. Spontan entleerte Steine werden daher im Harn nur in besonders glücklichen Fällen angetroffen, häufiger Steinfragmente. Doch finden sich zwischen den grossen Harnsteinen und dem Sediment Übergänge. Am bekanntesten sind die unter dem Namen Harngries oder Harnsand zusammengefassten Konkrementbildungen, die die Grösse eines Sand-, Gries-, Hirsekorns meist nicht übersteigen.

Vorkommen. Die Zustände im Harnapparat und in der Harnflüssigkeit, die zur Sedimentbildung führen, werden im allgemeinen auch die Ursache bei der Bildung der Harnsteine abgeben. Es ist daher auch hier auf die Nahrung, auf Stoffwechselvorgänge und Stoffwechselanomalien und endlich auf Veränderungen des Harns vor seiner Ausscheidung Gewicht zu legen. Überdies muss die Vorbedingung erfüllt sein, dass dem zur Steinbildung disponierenden Sediment Zeit und Gelegenheit zur Konglomeration gegeben ist, wie dies bei Harnretention aus irgend einer Ursache vorkommen kann.

Harnsteine wurden in jedem Alter beobachtet, sie treten relativ häufiger im jüngeren und im ältesten Lebensalter auf. Das männliche Geschlecht wird häufiger befallen als das weibliche. Es dürften auch hereditäre und endemische Verhältnisse eine Rolle spielen. Von Erkrankungen gehen die Rückenmarkserkrankungen häufig mit Nephrolithiasis einher. Als Ort der Bildung sind vorzugsweise die Nieren resp. die Nierenbecken, ferner die Blase zu nennen, doch

[1]) Mosler, Deutsch. med. Wochenschr. 1887. Nr. 23. S. 507.
[2]) Manasse, Zentralbl. f. d. Phys. u. Path. d. Harn- u. Sexualorgane. 1898. S. 597.

Digitized by Google

können Harnsteine auch in den übrigen Abschnitten des Harnapparates zur Entwickelung gelangen. Während aus der Niere grösstenteils Uratsteine oder Oxalatsteine stammen, gibt die Harnblase öfter Gelegenheit zur Bildung von Phosphatsteinen.

Bildung. Die Bildung der Harnsteine ist seit jeher Gegenstand der ärztlichen Forschung gewesen. Man war zu verschiedenen Zeiten bemüht, eine richtige Anschauung der Prozesse zu gewinnen, die zum Aufbau dieser eigenartig zusammengefügten und oft so mächtigen Gebilde führen. Die experimentelle Wissenschaft hat gesucht, einzelne der aufgestellten Theorien zu stützen.

Man war insbesondere bemüht zu ergründen, durch welche Kräfte das Steinmaterial zusammengehalten werde, in welcher Weise das Wachstum, die Anlagerung der präzipitierten Harnbestandteile erfolge. Dass der Stein sich gern um Zellklümpchen, um Blutgerinnsel oder Bakterien, um Fremdkörper als Kern anbildet, ist eine oft zu beobachtende Tatsache. Ultzmann [1]) hat auf Grund seiner mikroskopischen Untersuchungen von Dünnschliffen die Harnkonkretionen als Gebilde einer Massenkrystallisation aufgefasst, die den krystallographischen Gesetzen für die betreffenden Steinbildner unterworfen sind. Dagegen nahmen schon die Franzosen Fourcroy und Vauquelin, dann Scherer, Meckel [2]) als Bindemittel animalische Klebstoffe, namentlich Schleim und Zelldetritus an. Meckel behauptet sogar, dass der Steinbildung immer ein Schleimhautkatarrh vorangehe. Ebstein [3]) verfolgte diese organische Grundlage weiter und fand, dass sich in jedem Stein ein organisches Gerüst, das „Stroma" des Steines nachweisen lasse, zu dem entzündliche Reizungen der Schleimhaut in den Harnwegen das Proteinmaterial liefere (vgl. auch Schreiber [4])). Nach Moritz [5]) lässt sich jedoch schon an den einzelnen Krystallen des Harnsediments ein eiweissartiges Skelett nachweisen, so dass darin allein das Unterschiedliche zwischen Sediment und Konkrement nicht gelegen sein kann. In jüngster Zeit hat sich Schade [6]) mit der Frage der Steinbildung experimentell beschäftigt. Im wesentlichen handelt es sich um eine Bestätigung der alten Annahme, dass sich die Krystalloide um einen zentralen Eiweisskern gruppieren. Krystalloide lassen sich bei gleichzeitiger Anwesenheit mancher Kolloide zu Konkrementen formen. Bereits Kolloide zeigen, wenn man sie ausfallen lässt, einen schichtigen Absatz, der genau der schichtigen Ablagerung der organischen Grundsubstanz mancher Steine entsprechen kann. Lässt man aus Lösungen gleichzeitig Kolloid und Krystalloide ausfallen, so bilden sich am Boden schichtige Gebilde, die vielfach an Harnsteine erinnern. Selbst bei Anwesenheit minimalster Mengen von Kolloiden, kann die kolloide Niederschlagsart erhalten bleiben. Nach Schade ist ein Harnstein eine mehrschichtige Mischfällung von Kolloid und Krystalloid, die sich anstatt wandständig an den Gefässen, zirkulär an ein freischwebendes Körperchen angesetzt hat.

B. Spezielles.

Man teilt die Harnsteine nach den sie zusammensetzenden Substanzen ein. Reine, durchweg aus einer Substanz aufgebaute Steine

[1]) Ultzmann, Die Harnkonkretionen d. Menschen. 1882.

[2]) H. Meckel, Mikrogeologie. Berlin. 1856.

[3]) W. Ebstein, Naturwissenschaftl. Rundschau. 1900. Nr. 9. — Die Natur und Behandlung der Harnsteine. 1884.

[4]) Schreiber, Virchows Arch. 153. 153.

[5]) Moritz, Verhandl. d. 14. Kongr. f. inn. Med. 1896. S. 323.

[6]) Schade, Münchn. med. Wochenschr. 1909. Nr. 1 u. 2. Münchn. med. Wochenschr. 1911. Nr. 14. Mdc. Klinik 1911. Nr. 15.

Digitized by Google

finden sich selten. Unter den Calciumcarbonat-, Calciumoxalat-, Cystin-, Xanthin- und Cholesterinsteinen sind zuweilen reine Steine gefunden worden. Im übrigen sind die meisten Steine gemischte Steine, deren verschiedene Substanzen sich schichtweise um einen Kern und übereinander lagern. Besonders häufig wird ein Harnsäure-, oft auch ein Oxalatkern beobachtet. Die Steine werden nach der in der Masse überwiegenden Substanz benannt. Die Konkremente des sauren Harns können aus Harnsäure, aus saurem harnsaurem Natron, aus oxalsaurem Kalk und aus Cystin bestehen; aus alkalischem Harn bilden sich Steine, in denen harnsaures Ammonium, phosphorsaure Ammonmagnesia und amorpher phosphorsaurer Kalk nachgewiesen werden. Bei amphoterer Reaktion treten Steinschichten von kohlensaurem Kalk und von krystallisiertem phosphorsaurem Kalk auf.

Als wichtigste Harnsteine sind zu nennen:

1. Uratsteine.

Sie bestehen zum grössten Teil aus Harnsäure, daneben auch aus harnsaurem Natron. Sie sind meist oval, eirund und hart. Die Oberfläche ist feinkörnig; hier und da glatt. Sie sind rotbraun oder gelblichrot. Auf der Bruchfläche meist krystallinisch. Konkremente aus harnsaurem Ammon sind meist klein, weich und hellgelb gefärbt. Bruchstücke von Uratsteinen sind löslich in schwacher Sodalösung, unlöslich in verdünnten Mineralsäuren. Sie geben die Murexidprobe.

2. Phosphatsteine.

Es sind gelblich-weisse oder graue Konkremente, die sich hauptsächlich aus phosphorsaurer Ammonmagnesia und aus basisch-phosphorsaurem Kalk zusammensetzen. Sie haben eine sandige Oberfläche, sind weich und blättern sich leicht ab; bisweilen erreichen sie eine bedeutende Grösse. Mit Zunahme des Gehalts an phosphorsaurem Kalk nimmt auch die Härte zu. (Ein Calciumphosphat-Steinchen mit der konz. Schichtung zeigt die Abbild. auf Taf. III, Fig. 6.) Sie sind unlöslich in Alkalien, in Mineralsäuren leicht löslich. Sie bleiben beim Glühen auf dem Platinblech als anorganischer Rückstand zurück.

3. Calciumcarbonatsteine.

Diese werden häufiger beim Pflanzenfresser als bei Menschen beobachtet. Es sind meist kleine Konkremente mit konzentrischer Schichtung von der Grösse eines Sandkorns. Selten haselnussgross, doch

Digitized by Google

findet sich kohlensaurer Kalk beim Menschen häufig als Schichtsubstanz, eingelagert in andere Steine (Kukula[1]), Spiegler[2])).

Sie sind schmutzig-weiss, der Glanz oft perlartig, im Durchschnitt kreideweiss mit feinkörniger Struktur. Sie haben eine beträchtliche Härte. Sehr oft finden sich darin Eiterkörperchen von Calciumcarbonat ganz inkrustiert. Mit Mineralsäuren versetzt brausen sie unter Entweichen von Kohlensäure oft erst beim Erwärmen auf.

4. Calciumoxalatsteine.

Sie bilden die bekannten an Maulbeeren erinnernden Formen. Dies ist der Fall, wenn die Aussenschale aus oxalsaurem Kalk besteht. Häufig findet sich derselbe als Kern in Harnsäuresteinen eingelagert. Die Maulbeersteine sehen von aussen infolge der Tinktion mit Blutfarbstoff oft schwärzlich-braun aus. Sie haben eine krystallinische Bruchfläche und zeichnen sich durch eine besondere Härte aus. Stücke von oxalsaurem Kalk sind löslich in Mineralsäuren (Salzsäure), nicht löslich in Essigsäure.

5. Cystinsteine.

Diese verhältnismässig seltenen Steine zeigen eine glatte Oberfläche, sind schmutzig-gelb, leicht zerbrechlich und weich, mit dem Nagel zu ritzen. Ihre Bruchfläche ist krystallinisch. Sie sind unlöslich in Wasser, leicht löslich in Ammoniak, in kaustischen und kohlensauren Alkalien. Aus der ammoniakalischen Lösung krystallisieren beim Verdunsten oder beim Fällen mit Essigsäure die typischen sechsseitigen Tafeln aus. Etwas Cystin wird mit ein paar Tropfen Natronlauge auf dem Silberblech gekocht, worauf sich ein schwarzbrauner Fleck von Schwefelsilber bildet, der nicht wegzuwaschen ist. In alkalischer Lösung bei Gegenwart von Bleiacetat gekocht tritt Schwarzfärbung durch gebildetes Schwefelblei auf.

6. Xanthinsteine.

Diese sind noch seltener als Cystinsteine. Es sind nicht viele bekannt geworden (Senator[3])). Sie haben eine glatte, mattglänzende Oberfläche und sind zimmtbraun gefärbt. Sie sind hart, auf der Bruchfläche lassen sie eine amorphe konzentrische Schichtung erkennen. Die Schichten lassen sich leicht abblättern. In Alkalien und in Ammoniak sind sie leicht löslich. In Salpetersäure gelöst und über der Flamme vorsichtig abgedampft, bleibt ein zitronengelber Rückstand zurück, der

---

[1]) Kukula, Wien. med. Wochenschr. 1893. S. 2081 u. 1894. Nr. 1—5.
[2]) Spiegler, Berl. klin. Wochenschr. 1900. S. 599.
[3]) Senator, Erkrankungen der Niere. Nothnagels Handb. 1902.

Digitized by Google

mit Kalilauge rot wird und bei weiterem Erhitzen einen purpurroten Ton annimmt.

7. Indigosteine.

Solche sind von Chiari [1]), von Ord [2]) und von Forbes [3]) beschrieben worden. Ein Stein war als solcher kenntlich an einer dicken oberflächlichen Lage des körnigen, mattglänzenden Farbstoffes, der auf Papier einen blauschwarzen Strich hinterliess (Ord), der andere war ein Uratstein, der aussen in einer eiweissartigen Grundsubstanz rote und blaue Farbstoffkrystalle eingebettet enthielt (Chiari). Nach Sublimation von Steinpartikelchen in einer Eprouvette oder im Platintiegel mit aufgesetzter Glasplatte, traten neben einem Geruch von verbrennendem Indigo Dämpfe auf, die sich an der Glaswand kondensierten und unter dem Mikroskop blaue Prismen erkennen liessen.

8. Cholesterinsteine und sogenannte Urostealithen.

Es wurden aus ätherlöslichen Substanzen bestehende Konkremente teils im Harn gefunden, teils operativ aus den Harnwegen entfernt. Es handelte sich entweder um Steine, die sich aus Fetten und aus freien Fettsäuren (Stearinsäure, Palmitinsäure, Myristinsäure) (Horbaczewski [4])), oder aus körperfremden Fettstoffen wie Paraffin zusammensetzten (Krukenberg [5])); endlich um Steine, deren Hauptbestandteil Cholesterin war. Güterbock [6]) entnahm der Blase einer Frau mehrere Steine im Gesamtgewicht von 13 g, welche nach den Analysen von Schultzen und von Liebreich hauptsächlich aus Cholesterin bestanden. Horbaczewski untersuchte einen durch Blasenschnitt entfernten Stein und fand ihn bis zu 95,84 % aus Cholesterin zusammengesetzt. Glinski [7]) sah kleine Cholesterinkonkretionen im stagnierenden Harn eines durch einen Stein obturierten Ureters. Es ist naheliegend, die hier aufgetretenen Cholesterinkonkretionen mit dem Zerfall von zelligen Elementen, die als Eiterkörperchen, als rote Blutzellen und als Epithelzellen die Steinbildung in stärkerem oder geringerem Grade begleiten, in einen ätiologischen Zusammenhang zu bringen. Die übrigen Fettkonkremente dürften von aussen durch die Urethra in die Blase gelangt sein.

Die Cholesterinsteine können eine beträchtliche Grösse erlangen; sie sind wenig gefärbt und fühlen sich fettig an. Ihr Gefüge ist krystallinisch.

---

[1]) Chiari, Prager med. Wochenschr. 1888. S. 541.
[2]) Ord, Berl. klin. Wochenschr. 1878. S. 365.
[3]) Forbes, Med. News. 1894. August.
[4]) Horbaczewski, Zeitschr. f. phys. Chem. 1893. 18. 335.
[5]) Krukenberg, Malys Jahresber. f. Tierchemie. 1889. S. 422.
[6]) Güterbock, Virchows Arch. 1876. 66. 273.
[7]) Glinski, Malys Jahresber. f. Tierchemie. 1893. S. 584.

Digitized by Google

Der Nachweis gelingt durch die Eigenschaft des Cholesterins, in fettlösenden organischen Lösungsmitteln gut löslich zu sein; in kaltem Alkohol löst es sich schlecht, besser in warmem; aus der heissgesättigten alkoholischen Lösung krystallisiert es in den bekannten rhombischen Tafeln mit den rechtwinkelig abgeschnittenen Ecken aus. Werden Steinpartikelchen in Chloroform gelöst und mit der gleichen Menge einer auf ein Drittel mit Wasser verdünnten konzentrierten Schwefelsäure versetzt, so tritt blutrote Färbung ein.

9. Gemischte Steine.

Die meisten Steine sind gemischte Steine. Die einzelnen Bestandteile wechseln meist schichtenweise miteinander ab oder es findet sich beispielsweise ein Kern von Harnsäure eingeschlossen in einer Mantelschichte von Phosphaten. Die weitaus häufigste Kombination ist die der Urate und Phosphate. Sehr häufig ist ausserdem auch oxalsaurer Kalk beigemengt. Aus Uraten und Oxalaten zusammengesetzte Steine finden sich besonders häufig in den ersten zwei Dezennien.

C. Analyse.

Die äussere Gestalt der Harnsteine ist insofern von Bedeutung, als man daraus eventuell schliessen kann, ob es sich um einen frei beweglichen Solitärstein handelt.

Diese pflegen eine rundliche oder ovoide Gestalt zu haben, während Steine, die in grösserer Anzahl beisammenliegend eingeklemmt waren, meist an ihren abgeschliffenen Facetten zu erkennen sind.

Die makroskopische Betrachtung der Oberfläche lehrt zunächst, ob dieselbe glatt, rauh oder höckerig, maulbeerartig ist. Desgleichen kann die Oberflächenfärbung über die Zusammensetzung der äussersten Steinschicht unter Umständen einen Aufschluss geben. Wird der Stein zerschlagen oder durchgesägt, so lässt sich aus dem Schichtungsbild, aus der Farbe und aus der Härte die Frage beantworten, ob ein homogener Stein vorliegt oder nicht, und im letzteren Falle können daraus Schlüsse auf die den Stein zusammensetzenden Bestandteile gezogen werden.

Einen genaueren Einblick in das Gefüge und in den feineren Aufbau des Steines gewährt die mikroskopische Betrachtung. Sie wird mit Vorteil an Dünnschliffen vorgenommen (Ultzmann[1])). Die Herstellung solcher Dünnschliffe ist schwierig und umständlich und

[1]) Ultzmann, Die Harnkonkretionen d. Menschen. Wien. 1882.

Digitized by Google

kann für gewöhnlich nur in entsprechend eingerichteten petrographischen Instituten oder in Fabriken erfolgen.

Bei der chemischen Untersuchung kann man entweder auf die Identifizierung einer bestimmten Substanz ausgehen oder man stellt eine systematische, qualitative Gesamtanalyse an. Bei der Prüfung auf einzelne Bestandteile sind die für die einzelnen Harnsubstanzen angegebenen charakteristischen Reaktionen anzuwenden. Ausserdem kann zur Orientierung eine Steinprobe auf dem Platinblech geglüht werden.

Urat- und Xanthinstein entwickelt unter starker Verkohlung den Geruch nach Blausäure; Cystin verbrennt mit bläulicher Flamme unter Entwickelung des Geruchs nach schwefliger Säure; Phosphatsteine hinterlassen eine reichliche Menge Asche, welche in starker Hitze weiss leuchtet. Oxalsaurer Kalk wird zunächst schwarz und schliesslich zu Kalk verbrannt.

Die Gesamtanalyse stellt man nach Huppert in folgender Weise an:

1. Ein Bruchstück des Steins wird zerrieben, das Pulver in einem Reagenzglas mit Wasser übergossen und dann mit Salzsäure versetzt. Bei Gegenwart von kohlensauren Salzen nimmt man manchmal erst bei schwachem Erwärmen eine Gasentwickelung wahr.

2. Das Pulver wird dann mit einer grösseren Menge verdünnter Salzsäure erwärmt. Was dabei ungelöst bleibt, kann aus Harnsäure bestehen. Man filtriert das Pulver ab und glüht einen Teil auf dem Platinblech; die Entwickelung des Geruchs nach Blausäure zeigt Harnsäure an; mit dem Rest des Pulvers nimmt man die Murexidprobe (siehe diese) vor.

3. In der salzsauren Lösung können sich befinden Gips, Xanthin, oxalsaurer Kalk, Cystin und die Phosphate.

a) Gibt Chlorbaryum mit der Lösung einen feinpulverigen Niederschlag, so enthält sie Schwefelsäure und somit wahrscheinlich Gips (Nachweis des Kalks).

b) Um das Xanthin aufzusuchen, wird ein Teil der Lösung mit Ammoniak übersättigt und das Filtrat mit ammoniakalischer Silberlösung versetzt; ein dabei entstehender gelatinös flockiger Niederschlag kann Xanthin enthalten, oder es kann ein Teil des Filtrates eingedampft und mit dem Rückstand die Salpetersäureprobe vorgenommen werden (siehe S. 969). Man kann auch die ganze salzsaure Lösung zu dem Versuch verwenden, hat aber dann für die weitere Untersuchung einen etwa entstandenen Ammoniakniederschlag abzufiltrieren und wieder in Salzsäure zu lösen.

Digitized by Google

c) Die Lösung wird vorsichtig mit kohlensaurem Natron versetzt, bis ein geringer beim Umschütteln bleibender Niederschlag entsteht, dieser wieder in der gerade erforderlichen Menge Salzsäure gelöst und die Flüssigkeit mit überschüssiger (30 % iger) Lösung von essigsaurem Natron versetzt. Nach einigem Stehen setzen sich, wenn sie vorhanden sind, Cystin und oxalsaurer Kalk ab, möglicherweise, wenn die Lösung zu schwach sauer war, auch phosphorsaurer Kalk. Das Cystin kann dem Niederschlage durch Digestion mit Ammoniak entzogen werden; Essigsäure fällt dann das Cystin aus der ammoniakalischen Lösung krystallinisch. Der in Ammoniak unlösliche Anteil kann aus oxalsaurem Kalk bestehen; er darf sich nicht in Essigsäure lösen (Unterscheidung von Kalkphosphat), löst sich aber in Salzsäure; Übersättigen seiner salzsauren Lösung mit essigsaurem Natron erzeugt wieder einen feinpulverigen Niederschlag von oxalsaurem Kalk. Wird der Niederschlag geglüht und darauf mit Essigsäure überzogen, so entwickelt er jetzt Kohlensäure und in der entstandenen Lösung lässt sich mit oxalsaurem Ammon Kalk nachweisen.

Die mit dem Acetat ausgefällte Lösung enthält die Phosphate und sämtliche Basen mit Ausnahme desjenigen Kalkes, welcher mit der vorhandenen Oxalsäure ausfiel. Man übersättigt einen Teil der Lösung mit Ammoniak oder kohlensaurem Natron; bleibt sie klar, so sind keine Phosphate vorhanden, trübt sie sich, so können solche zugegen sein. Man unterscheidet nach α oder β.

α) Gibt ein Teil der Flüssigkeit mit oxalsaurem Ammon einen feinen weissen, in Salzsäure löslichen Niederschlag, so ist Kalk nachgewiesen. Man erwärmt dann den Rest der Flüssigkeit, setzt so viel oxalsaures Ammon zu, bis sich kein Niederschlag mehr bildet, lässt die Flüssigkeit einige Stunden an einem warmen Orte stehen und filtriert. Man dampft das Filtrat in einer Schale auf ein kleines Volumen ein und versetzt es mit $^1/_3$ Volumen 10 % igem Ammoniak; entsteht dann ein krystallinischer Niederschlag (von phosphorsaurer Ammon-Magnesia), so sind Magnesia und Phosphorsäure zugleich nachgewiesen; bleibt der Niederschlag aus, so ist keine Magnesia vorhanden; um dann noch Phosphorsäure aufzufinden, vermischt man einige Tropfen schwefelsaurer Magnesia mit Chlorammon und Ammoniak und setzt einige Tropfen dieser Lösung, welche ganz klar sein muss, der ammoniakalischen Flüssigkeit, in welcher man die Magnesia und die Phosphorsäure gesucht hat, hinzu. — Entsteht jetzt ein krystallinischer Niederschlag, so war Phosphorsäure vorhanden.

β) Schneller führt folgendes Verfahren zum Ziele. Die nach der Abscheidung des Oxalats erhaltene Lösung wird, da sie in der Regel stark sauer ist, wieder mit kohlensaurem Natron abgestumpft wie 3. c)

Digitized by Google

und dann mit wenig Eisenchlorid versetzt. Entsteht ein gelatinöser weisser oder gelblicher Niederschlag, so ist Phosphorsäure nachgewiesen. Man versetzt dann mit nur so viel Eisenchlorid, dass die Flüssigkeit schwach blutrot wird und filtriert; das Filtrat wird abermals mit Eisenchlorid geprüft, ob es noch einen Niederschlag gibt und vollends ausgefällt. Das überschüssige Eisen fällt beim Kochen der Flüssigkeit als basisch essigsaures Salz in rostfarbenen Flecken vollständig aus. — Trübt sich die vom Ferriacetat abfiltrierte Flüssigkeit mit oxalsaurem Ammon, so ist Kalk vorhanden; man fällt den Kalk in der Wärme wie bei α mit Ammonoxalat aus, setzt reichlich Chlorammon, dann $^1/_3$ Vol. Ammoniak zu und versetzt die klare Flüssigkeit mit etwas phosphorsaurem Natron; ein entstehender grobkrystallinischer Niederschlag besteht aus phosphorsaurer Ammon-Magnesia. Man kann auch das nach dem Fällen des basischen Eisenacetats erhaltene Filtrat mit viel Chlorammon und etwas kohlensaurem Natron oder Ammon versetzen und die Flüssigkeit, gleichgültig, ob sie einen Niederschlag gegeben hat oder nicht, anhaltend kochen; bei Gegenwart von Kalk setzt sich ein geringer sandiger Niederschlag ab und die Wand des Glases beschlägt sich mit einem zarten Anflug. Man fällt in derselben Weise mit Carbonat aus, filtriert und prüft das Filtrat, wie nach dem Fällen des Kalks mit Oxalat, auf Magnesia. Werden die Filtrate bei diesen Operationen zu verdünnt, so tut man gut, sie vor weiterer Untersuchung durch Eindampfen zu konzentrieren.

γ) Das Ammoniak findet man bei diesem Gang der Analyse nicht.

Man sucht es in dem nach 2. gewonnenen salzsauren Auszug des Steines. Man macht die Lösung mit Natronlauge stark alkalisch und klemmt in die Mündung des Reagenzglases mittelst eines Stopfens einen benetzten Streifen roten Lackmuspapiers so ein, dass er die Wand des Glases nicht berührt. Bläut er sich, so ist Ammoniak vorhanden. —

Digitized by Google

Anhang I.

Agglutinine und Lysine.

Lysogene und agglutinogene Substanzen.

1. Agglutinine.

Wird normaler, genuiner Menschenharn nach Absättigung seiner freien Säure mit einer Erythrocyten-Aufschwemmung zusammengebracht, so beobachtet man keinerlei Veränderung an dem letzteren; der Harn verhält sich ganz indifferent. Wird dagegen derselbe Harn nach Alkoholzusatz bei einer 40° nicht übersteigenden Temperatur im Vakuum eingeengt, so gelingt es, mit minimalen Mengen des neutralisierten Rückstandes in entsprechender Verdünnung den roten Blutkörperchen gegenüber eine Giftwirkung nachzuweisen, die sich in einer intensiven Agglutination derselben äussert.

Diese Eigentümlichkeit des normalen Menschen- und Tierharnes, die von H. Pfeiffer[1]) beobachtet und eingehend studiert wurde, scheint an die Anwesenheit einer an und für sich unwirksamen, weder hemmend noch agglutinierend wirkenden Harnsubstanz geknüpft zu sein, die erst unter dem Einfluss bestimmter chemischer und physikalischer Eingriffe in die wirksame Form übergeführt wird.

Für die Charakterisierung dieser Muttersubstanz trug zunächst ihr Verhalten im Dialyseversuch bei. Es zeigte sich, dass sie adialysabel ist, demnach einen Körper kolloidaler Natur vorstellt. Mit im Harn vorkommenden anorganischen Kolloiden, wie z. B. Kieselsäure, Neutralsalze, die nach Landsteiner und Jagic[2]) Blutkörperchen oder anderen zelligen Elementen gegenüber ebenfalls das Agglutinationsphänomen zeigen, sind die in Rede stehenden Körper nicht identisch. Ebensowenig handelt es sich um die von Abderhalden und Pregl[3]) als Eiweissabkömmlinge, eventuell als Polypeptide chemisch definierten Kolloide des Harns. Eine genaue Vorstellung von der chemischen Beschaffenheit der Muttersubstanz des agglutinierenden Prinzipes lässt sich gegenwärtig nicht geben.

Die Menge wirksamer Harnrückstände ist grossem Wechsel unterworfen. Es konnten Harnproben eines unter gleichen Lebensbedingungen stehenden Menschen einmal sehr grosse, das andere Mal kaum nachweisbare Wirkung haben.

Darstellung: Nach H. Pfeiffer werden 500 ccm genuinen Morgenharnes zu gleichen Teilen mit absolutem Alkohol versetzt. Es kann nun von dem sich abscheidenden Niederschlag abfiltriert werden oder die getrübte Flüssigkeit im

---

[1]) Pfeiffer, Zeitschrift f. Hygiene **54**. S. 439. 1906.
[2]) Landsteiner und Jagic, Wien. klin. W. 1904. Nr. 3.
[3]) Abderhalden und Pregl, Zeitschrift f. phys. Chemie **46**. 19. 1905.

Digitized by Google

Vakuum bei einer 40° nicht übersteigenden Temperatur beiläufig bis zur Sirupdicke eingeengt werden. Der Rückstand wird in etwas Wasser aufgenommen, klar filtriert, mit Kalilauge sofort und exakt neutralisiert, da sonst die freie Säure eine störende Hämolyse hervorrufen würde. Nun wird auf das Volumen von 1 ccm der Lösung = 5 ccm des Ausgangsmaterials aufgefüllt. Der Gehalt an Harnsalzen stört die Beobachtung des Agglutinationsphänomens nicht, doch können diese durch eine 24—48stündige Dialyse so weit entfernt werden, dass sie praktisch nicht mehr in Betracht kommen. Der grossen Hinfälligkeit der agglutinierenden Wirkung wegen und infolge der eintretenden Verdünnung empfiehlt es sich, bei Anwendung der Dialyse von einer Lösung des eingeengten Rückstandes von 1 : 10 auszugehen, da durch eine neuerliche Einengung des Dialysates, die ja unter Alkoholzusatz erfolgen muss, die agglutinierenden Eigenschaften, wenn auch in den meisten Fällen nicht vollständig zerstört, so doch schwer geschädigt werden. Gewicht ist zu legen auf die sofortige Neutralisation der Lösungen, da sonst in kurzer Zeit ihre Wirksamkeit ganz ausserordentlich abnimmt. Es empfiehlt sich in allen Fällen, wo Titerbestimmungen vorgenommen werden, dies erst am zweiten Tag und wiederholt zu tun. Erst dann bekommt man ein richtiges Bild von der Wirksamkeit eines Rückstandes.

Zur Methode ist zu bemerken, dass Erhitzen des Harnes auf 80° im Wasserbad ebenfalls aktive Rückstände, jedoch von geringerer Wirksamkeit liefert, als die Darstellung im Vakuum. Geringgradige saure resp. alkalische Reaktion der Harne scheint günstiger zu sein als neutraler Harn, ebenso steigert die Verwendung des Alkohols die agglutinierende Kraft der Rückstände.

Eigenschaften: Ammonsulfat fällt den aktiven Körper. Anderweitige chemische Isolierungsversuche konnten nicht ohne Schädigung des Agglutinationsvermögens vorgenommen werden.

Eiweisslösungen besitzen eine intensive Hemmungskraft der agglutinierenden Wirkung der Rückstände. Sie reagieren mit diesen unter Bildung anfangs einer Trübung, später einer Ausflockung; durch Erhitzen inaktivierter Rückstände fehlt diese Eigenschaft. Sowohl Lecithin, als Cholesterin, das erste mehr wie das letzte, entfalten eine Schutzwirkung für die Erythrocyten, hemmen also die Reaktion. Mitunter gelingt es in konzentrierten Lösungen keine Agglutination hervorzurufen, während die Reaktion in verdünnten Lösungen ungehindert verläuft.

Durch Vorbehandlung mit Erythrocyten gelingt es, das Agglutinationsvermögen des wirksamen Harnproduktes zu sättigen. Die Agglutination ist nicht spezifisch; sie lässt sich an allen bisher untersuchten Blutarten mit der gleichen Empfindlichkeit nachweisen.

2. Lysine.

Es fehlt nicht an Angaben über das Vorkommen von Substanzen im normalen und pathologischen Harn des Menschen, die die Eigenschaft haben, rote Blutkörperchen aufzulösen.

So konnten Sabrazès und Fauquet [1]) in drei Fällen beobachten, dass der erste Urin Neugeborener hämolytische Eigenschaften besass. Die von anderen Autoren bestätigte Beobachtung wurde von Amédie Pugnat [2]) im wesentlichen auf die niedrige molekulare Konzentration zurückgeführt, indem hypotonische Harne hämolytisch seien.

[1]) Sabrazès und Fauquet, Compt. rend. soc. biol. 1901. **53**. 372.
[2]) Amédie Pugnat, Ebenda 1901. **53**. 395.

Digitized by Google

Roger S. Morris[1]) fand in Fällen von perniziöser Anämie Hämolysine im Harn. Ruffer und Calvocoressi[2]) geben an, dass die lytische Eigenschaft bei chronischen und akuten Nierenerkrankungen sehr verschieden ist von der des normalen Harnes. Alle Fälle von normalem Harn haben starke Hämolyse, dagegen die nephritischen meist nicht. Zum Teil, wenn auch nicht in gleichem Umfange, konnten diese Befunde von Eug. J. Leopold[3]) bestätigt werden. Wohl fand auch er eine stärkere und raschere Hämolyse bei Nierengesunden im Gegensatz zu Nierenkranken, aber die Unterschiede waren nicht so bedeutende. Nicht-Nephritiker haben in jedem Fall Hämolysine. Der Urin der künstlich durch Uran bzw. Kantharidin erzeugten akuten Nephritis machte starke Hämolyse, während der normale Kaninchenharn unter gleichen Versuchsbedingungen nur schwach hämolytisch wirkte.

Zum Methodischen sei bemerkt, dass Eug. J. Leopold für die Aufschwemmung roter Blutkörperchen frisches Plazentarblut von normal Entbundenen verwendete. Dasselbe wurde mit 0,85% Kochsalzlösung gründlich gewaschen und eine 5%ige Aufschwemmung zur Hämolyse genommen. Der Urin wurde in normaler Konzentration in 50% und 25% der ursprünglichen Konzentration zugesetzt. Für die Verdünnungen wurden 0,85 Kochsalzlösung verwendet. Von diesen Harnlösungen wurden 6 ccm, 3 ccm und 1 ccm mit 2 ccm der Blutkörperchenaufschwemmung zusammengebracht und 24 Stunden bei 36° C stehen gelassen.

3. Agglutinogene und lysogene Substanzen.

Im Harn von Tieren und Menschen treten Substanzen auf, die eine ganz eigentümliche Reaktion im Tierkörper hervorrufen. So injizierte Schattenfroh[4]) Kaninchen Menschen-, Ziegen- und Pferdeharn in grösseren Mengen subkutan. Die Tiere erhielten in 2—3 tägigen Intervallen 120—150 ccm Harn. Es stellte sich heraus, dass das Serum des mit Menschen- resp. Ziegenharn vorbehandelten Tieres eine Eigenschaft erlangt hat, die es vordem nicht besass. Es löste bzw. agglutinierte rote Blutkörperchen derjenigen Spezies, dessen Harn zur Injektion verwendet worden war. Insbesondere war dies für das Serum nach Menschenharninjektion der Fall. Der Menschenharn besitzt also scheinbar in grosser Menge Stoffe, die spezifische Agglutinine bzw. Lysine im Tierkörper zu bilden imstande sind. Das Blutserum eines mit Pferdeharn vorbehandelten Tieres hatte keine deutlich erkennbaren hämolytischen oder agglutinierenden Eigenschaften; Präcipitine konnten nicht nachgewiesen werden. Es traten also weder nach Menschen- noch nach Ziegenharninjektionen im Serum der Kaninchen Stoffe auf, die mit Menschen- resp. Ziegenserum spezifische Fällungen gaben. Normales Ziegenserum besitzt stark globulizide Eigenschaft gegenüber Meerschweinchenblutkörperchen. Diese Eigenschaft konnte durch Zusatz von Ziegenharnserum nicht beeinflusst werden.

[1]) Roger S. Morris, Journ. med. science 1904. 129. 1026—32.
[2]) Ruffer und Calvocoressi, Brit. med. Journ. 1905. 25. Nov.
[3]) Eug. J. Leopold, Zeitschr. f. klin. Med. 1906. 60. 480.
[4]) Schattenfroh, Münch. med. Wochenschr. 1901. 1239. und Archiv f. Hyg. 1902. 44. 339.

Digitized by Google

Eigenschaften: Die hier in Betracht kommenden Stoffe sind nur wenig thermolabil. Bringt man nämlich Menschenharn, bevor man ihn Kaninchen injiziert, zum Sieden, so verlieren seine lysogenen resp. agglutinogenen Stoffe nur wenig an Wirksamkeit. Es zeigte sich allerdings, dass die Wirkung des nicht erhitzten Harns eine stärkere war. Die Wirksamkeit der nicht dialysablen Rückstände des Menschenharns ist fast gleich gross, wie die des nativen Harns.

Die lysogene Substanz ist demnach nicht dialysierbar. Von weiteren physikalisch-chemischen Eigenschaften wurde zur Charakterisierung die Fällbarkeit mit Alkoholäther (Alkohol-Äther aa) herangezogen. Der dialysierte Harn im Vakuum zur Trockne eingedampft und in Wasser aufgenommen, gab eine leicht klar filtrierbare Flüssigkeit; diese mit dem Alkoholäthergemisch im Verhältnis 1 : 20 versetzt, gab einen gut dekantierbaren Niederschlag. Im Vakuum getrocknet und im Wasser aufgenommen, enthielt er die wirksamen Harnsubstanzen.

Ob die lysogenen Stoffe durch Sättigen der Lösung mit Ammonsulfat aussalzbar sind, konnte nicht einwandfrei entschieden werden.

Es scheint am wahrscheinlichsten, dass die lysogenen Stoffe aus dem Blut stammen und die Nieren passieren. Doch ist diese Frage noch nicht entschieden. Bakterienwachstum im Harn lässt unter Umständen die Substanz intakt.

Diese Befunde Schattenfrohs wurden von A. Ruffer, M. Crendiropoulo et G. Calvocoressi[1]) bestätigt, ebenso von Pearce[2]). Diese fanden auch das Ochsen- und Schafharnserum spezifisch hämolytisch. Der lysogene Stoff soll beim Erwärmen oberhalb 56° angegriffen und bei 120° (1—2 Stunden) zerstört werden. Durch Tierkohle wird er teilweise zurückgehalten, durch Säure und Alkali zerstört, durch Bleiacetat sowie mit Ammonsulfat gefällt. Normaler Harn hemmt die durch Harnserum bedingte spezifische Hämolyse (Ruffer und Crendiropoulo[3]).

Auch Italo Gardi und Luigi[4]) Livori nehmen auf Grund ihrer Untersuchungen cytolysogene Substanzen im Harn an, die die Ausbildung von Cytolysinen veranlassen. Nach ihnen wirkt normaler Urin antihämolytisch durch Komplementbindung. Durch Immunisierung von Kaninchen mit Harn werden hämolytische Sera erhalten, die auch mit den verschiedenen Organzellen Komplement binden.

---

[1]) A. Ruffer, M. Crendiropoulo et G. Calvocoressi, Journ. de Phys. et de Pathol. génér. 1905. 7. p. 820. 845.

[2]) Pearce, Journ. of med. Research. 1904 7. 1.

[3]) A. Ruffer et Crendiropoulo Brit. med. Journ. 1903. 1. 150.

[4]) Italo Gardi et Luigi Livori, Ann. dell' instit. Maragliano 1910. 3. 334—346.

Digitized by Google

Anhang II.

Berichtigungen und Ergänzungen.

Ergänzung zu Seite 25 (und 143).

Zur Bestimmung der aktuellen Acidität verfährt O. Neubauer[1]) so, dass er den Harn mit 1/5 seines Volumens ätherischer Lackmoid-Lösung schüttelt, normaler Harn nimmt dabei aus dem Äther blauen Farbstoff auf, färbt sich infolgedessen blau oder grünlich, d. h. normaler Harn in dieser Weise untersucht, reagiert alkalisch. Hyperacide Harne aber nehmen keinen Farbstoff auf, ihre übersaure Reaktion erkennt man also am Farblosbleiben des Harns.

Die Lackmoidlösung stellt O. Neubauer in der Art her, dass er 1—2 cg Lackmoid („pro Analysi" Merck) mit ca. 10 ccm 96%igem Alkohol zum Kochen erhitzt, bis das Volumen ca. 5 ccm beträgt; die so erhaltene konzentrierte alkoholische Lösung wird dann in 100 ccm reinen säurefreien Äther gegossen und die Mischung filtriert.

Zum Hinweis auf das Vorhandensein stark saurer Reaktion eines Harns erwies sich mir die Probe sehr geeignet (Spiro).

Bestimmung des reduzierenden Zuckers nach Stanley R. Benedict[2]).

A. Prinzip.

S. R. Benedict hat gefunden, dass eine Fehlingsche Lösung bedeutend empfindlicher auf reduzierende Zucker reagiert, wenn das Alkalihydroxyd durch Carbonat ersetzt wird.

Es empfiehlt sich ferner Spuren von Ferrocyanid zuzugeben, um ein Ausfällen von rotem Kupferoxydul zu verhindern, das durch gewisse Verunreinigungen gebildet werden kann. In diesem Sinne wirkt z. B. Chloroform, das daher bei der Titration nicht zugegen sein darf.

Um einen genügend scharfen Endpunkt zu garantieren wird vor der Titration noch Carbonat zur Erzielung einer genügenden Alkalinität hinzugefügt.

B. Erfordernisse.

Unter Erwärmen werden 200 g Natriumcitrat und 200 g kryst. Natriumcarbonat in so viel Wasser gelöst, dass die Mischung ca. 600—700 ccm beträgt, dazu fügt man genau 18,000 g Kupfersulfat, die in ca. 100 ccm Wasser gelöst sind, langsam unter sorgfältigem Rühren. Die Mischung wird filtriert, kalt mit 5 ccm einer 5%igen Kaliumferrocyanidlösung versetzt und mit Wasser genau auf 1 Liter aufgefüllt. Das Reagens hält sich unverändert ohne besondere Vorsichtsmassregeln (auch am Licht). 25 ccm des Reagens werden durch 0,050 g Glukose, resp. 0,053 Fruktose reduziert.

C. Ausführung.

25 ccm des Reagens werden in eine Porzellanverdampfungsschale von 25—30 cm Durchmesser eingefüllt (nach meiner Erfahrung empfehlen sich mehr die weithalsigen Jenenser Kölbchen), dazu 10—20 g kryst. Natriumcarbonat (oder 5—10 g des wasserfreien Salzes) und eine sehr kleine Menge gepulverten

[1]) Verhandlg. d. Kongr. f. inn. Medizin **28**. 161. 1911.

[2]) St. R. Benedict, Journ. of biol. chemistry **3**. 101. 1907. **9**. 57. 1911.

Digitized by Google

Bimstein. Man erhitze dann über freier Flamme bis zu starkem Kochen und lasse die Zuckerlösung schnell zufliessen, bis sich ein weisser Niederschlag zu bilden anfängt und die blaue Färbung der Lösung zu verblassen beginnt; von da ab ist die Zuckerlösung langsamer und langsamer unter konstantem starkem Kochen bis zum Verschwinden der letzten Spuren blauer Färbung zuzugeben, zuletzt tropfenweise mit einem Zwischenraum von 30 Sekunden zwischen 1—2 Tropfen. Wird dabei die Lösung zu konzentriert, so ist sie mit destilliertem Wasser zum Anfangsvolumen aufzufüllen.

Die Methode hat sich mir bei Nachprüfung gut bewährt (Spiro).

Auf Seite 61, Zeile 21 von oben lies: S. 2.

Auf Seite 142, 4. Zeile von unten lies: Bei der Berechnung hat man 3 % von der für die Phosphorsäure des einfach sauren Phosphats gefundenen Zahl dieser Phosphorsäure zuzuzählen und diese Grösse von der Phosphorsäure des zweifach sauren Phosphats abzuziehen. (Lieblein a. a. O. S. 86.)

Zu Seite 163 Zeile 6 von unten: Unter Zugrundelegung der Atomgewichte K = 39 15, Na = 23.05, Cl = 35.45 ergibt sich nach Berechnungen von W. Wiechowski die Formel: KCl = 4.6335 S — 9.6463 Cl, oder K = 2.4317 S — 4.0217 Cl oder 2.4317, S — gewogenes AgCl mal 0,99213.

Es sei darauf hingewiesen, dass man den analogen Gang auch mit den Sulfaten ausführen kann, wobei man sicherere Resultate sowohl in der Vollständigkeit der Entfernung der Ammonsalze als auch in der sicheren Vermeidung von Alkaliverlust beim Abrauchen erhält. Unter Verwendung der Atomgewichte K = 39,15, Na = 23,05, Ba = 137,43, S = 3206 berechnet W. Wiechowski:

K = 2.4317 mal den gewogenen Sulfaten — 1.4805 mal gewogenen Baryumsulfat
Na = 1.0691 „ „ „ „ — 1.4317 „ „ „

Auf Seite 316, Zeile 6 von oben lies: Sieden in der Flamme.

Auf Seite 405, Zeile 16 von oben (Abschn. 2, Zeile 2) lies: 250 g Kaliumcarbonat und 50 g Kaliumbicarbonat.

Auf Seite 407, Zeile 6 von oben lies: 5 g Kaliumpermanganat.

Auf Seite 408, Zeile 2 von oben lies: $\frac{63.57 \times 2}{142.1} = 0.8947$.

Auf Seite 450, Zeile 17 von oben (Abschn. 4, Zeile 1) lies: Zusatz von zwei Tropfen Essigsäure.

Auf Seite 557, Zeile 19 von oben lies: Wasserstoffeinleitung.

Auf Seite 644, Zeile 3 von unten lies: schwach saure Reaktion.

Darstellung von Normalsalzsäure nach G. A. Hulett und W. D. Bonner[1]).

A. Prinzip.

Die Destillation von Salzsäure entspricht nicht dem Henry schen Gesetz, sondern die Kurve der Abhängigkeit zwischen Zusammensetzung und Siedepunkt zeigt den höchsten Punkt mit 110° bei einem Gehalt von 20.242 %, d. h. bei der Destillation bleibt, gleichgültig ob wir von einer höher oder niedriger konzentrierten Säure ausgehen, immer die Säure von 20.242 % zurück, die dann in konstanter Zusammensetzung destilliert.

B. Ausführrng.

Man verdünnt 500 ccm konzentrierte Salzsäure mit 500 ccm Wasser, destilliert davon zunächst etwa 500 ccm ab, die man verwirft, die darauf übergehenden 200—400 ccm dienen als Ausgangsflüssigkeit für die Bereitung der Normallösungen: Zur Bereitung einer n/1-HCl nimmt man 180.17 g resp. 164.42 ccm und verdünnt auf 1 Liter. [Ist die Destillation bei hohem Druck ausgeführt (770 mm), so nehme man 180.39 g, resp. bei niedrigem Druck (750 mm) 179.96 g].

Die Flüssigkeit ist, wie aus dem unter A Gesagten hervorgeht, nicht hygroskopisch und nicht flüchtig und behält daher ihren Ausgangstiter. Das Verfahren hat sich bewährt (Spiro).

[1]) G. A. Hulett und W. D. Bonner, Journ. Amer.-Chem. Soc. **31**. 390. 1909.

Digitized by Google

Anhang III.

Tabellen.

Atom- und Molekulargewichte und deren Logarithmen.

	Gewicht	Log.
Ag	107,88	03294
AgBr	187.80	27370
AgCl	143.34	15637
AgJ	234,80	37070
$AgNO_3$	169,89	23017
$BaCO_3$	197,37	29528
$BaCl_2 . 2 H_2O$	244,32	38796
$BaSO_4$	233,44	36818
Br	79,92	90266
C	12,00	07918
Ca	40,09	60304
Cl	35,46	54974
F	19,0	27875
Fe	55,85	74702
H	1,008	00346
HCl	36,47	56194
HNO_3	63,02	79948
H_3PO_4	98,06	99149
H_2S	34,09	53263
H_2SO_4	98.09	99162
Essigsäure	60,03	77837
Oxalsäure + 2aq	126,05	10055
$\frac{C_2H_2O_4 + 2aq}{2}$	63,02	79948
H_2O	18,016	25565
Hg	200	30103

	Gewicht	Log
J	126,92	10353
K	39,10	59218
KCl	74,56	87251
$KMnO_4$	158,03	19874
$\frac{KMnO_4}{5}$	31,61	49977
KOH	56,11	74904
K_2PtCl_6	486,2	68681
K_2SO_4	174,27	24123
Mg	24,32	38596
$Mg_2P_2O_7$	222,72	34770
N	14,01	14644
NH_3	17,03	23121
$(NH_4)_2PtCl_6$	444,0	64738
Na	23,00	36173
Na_2CO_3	106,00	02531
NaCl	58,46	76686
NaOH	40,01	60217
Na_2SO_4	142,07	15250
O	16,00	20412
P	31,04	49192
P_2O_5	142,08	15253
Pt	195,2	29048
S	32,07	50610
SO_4	96,07	98259
U	238,5	37749

Zur Berechnung der Analysen.

Gewicht	Gefunden	Faktor	Log.
Br	AgBr	0,4256	62896
C	CO_2	0,2727	43573
CO_2	$CaCO_3$	0,4396	64306
	CaO	0,7844	89456
Ca	$CaCO_3$	0,4005	60265
	CaO	0,7148	85415
	$CaSO_4$	0,2944	46899
Cl	Ag	0,3287	51680
	AgCl	0,2474	39337
H	H_2O	0,1119	04884
K	KCl	0,5244	71967
	K_2PtCl_6	0,1608	20640
	K_2SO_4	0,4487	65198
	Pt	0,4006	60273

Digitized by Google

Gewicht	Gefunden	Faktor	Log.
Mg	$Mg_2P_2O_7$	0,2184	33923
Na	NaCl	0,3934	59487
	Na_2SO_4	0,3238	51026
PO_4	$Mg_2P_2O_7$	0,8535	93118
S	$BaSO_4$	0,1374	13792
SO_4	$BaSO_4$	0,4115	61441

Volumetrische Stickstoffbestimmung.

Ist s das Gewicht der angewandten Substanz, v das Gasvolumen, das bei der absoluten Temperatur T ($= t + 273^0$) und dem Barometerdruck b mm über 30%iger Kalilauge von der Tension ϑ aufgefangen wurde, so ist: $\log x = \log v + \log (b - \vartheta) + 0{,}6536 - (\log s + \log T)$. — ϑ ist bei $0^0 = 3{,}7$, bei $5^0 = 5{,}2$, bei $10^0 = 7{,}3$, bei $15^0 = 10{,}2$, bei $16^0 = 10{,}9$, bei $17^0 = 11{,}6$, bei $18^0 = 12{,}3$, bei $19^0 = 13{,}1$, bei $20^0 = 14{,}0$, bei $25^0 = 19{,}0$.

Annähernde Zusammensetzung der Reagentien nach Emil Fischer.

Reagens	Spez. Gew.	ungefähre Normalität	1 l Normallösung entspr. ccm	100 g enthalten	100 ccm enthalten
Schwefelsäure konz.	1,84	$36.\frac{H_2SO_4}{2}$	28	95,6 g H_2SO_4	175,9 g H_2SO_4
Schwefelsäure verd. (1 l + 6,4 l H_2O)	1,16	$5.\frac{H_2SO_4}{2}$	200	21,5 g H_2SO_4	24,5 g H_2SO_4
Salzsäure konz.	1,19	12.HCl	82,5	37,2 g HCl	44,3 g HCl
Salzsäure verd. (1 l + 1,5 l H_2O)	1,08	5.HCl	200	16,8 g HCl	18,2 g HCl
Salpetersäure konz.	1,4	14,5.HNO_3	69	65,3 g HNO_3	91,4 g HNO_3
Salpetersäure verd. (1 l + 2 l H_2O)	1,17	5.HNO_3	200	27,1 g HNO_3	31,5 g HNO_3
Essigsäure konz.	1,06	18.$C_2H_4O_2$	56,5	100 g $C_2H_4O_2$	106 g $C_2H_4O_2$
Essigsäure verd. (1 kg + 1 l H_2O)	1,06	9.$C_2H_4O_2$	113	50 g $C_2H_4O_2$	53,1 g $C_2H_4O_2$
Kalilauge	1,32	7,5.KOH	130	33 g KOH	43,2 g KOH
Natronlauge 1 kg (etwa 99%) + 2 l H_2O	1,36	10.NaOH	100	30 g NaOH	40 g NaOH
Ammoniak	0,91	13,3.NH_3	75	25 g NH_3	22,7 g NH_3

Digitized by Google

Logarithmen.

Digitized by Google

Logarithmen.

Nat. Zahl	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9
														Proportionalteile.					
10	0000	0043	0086	0128	0170	0212	0253	0294	0334	0374	4	8	12	17	21	25	29	33	37
11	0414	0453	0492	0531	0569	0607	0645	0682	0719	0755	4	8	11	15	19	23	26	30	34
12	0792	0828	0864	0899	0934	0969	1004	1038	1072	1106	3	7	10	14	17	21	24	28	31
13	1139	1173	1206	1239	1271	1303	1335	1367	1399	1430	3	6	10	13	16	19	23	26	29
14	1461	1492	1523	1553	1584	1614	1644	1673	1703	1732	3	6	9	12	15	18	21	24	27
15	1761	1790	1818	1847	1875	1903	1931	1959	1987	2014	3	6	8	11	14	17	20	22	25
16	2041	2068	2095	2122	2148	2175	2201	2227	2253	2279	3	5	8	11	13	16	18	21	24
17	2304	2330	2355	2380	2405	2430	2455	2480	2504	2529	2	5	7	10	12	15	17	20	22
18	2553	2577	2601	2625	2648	2672	2695	2718	2742	2765	2	5	7	9	12	14	16	19	21
19	2788	2810	2833	2856	2878	2900	2923	2945	2967	2989	2	4	7	9	11	13	16	18	20
20	3010	3032	3054	3075	3096	3118	3139	3160	3181	3201	2	4	6	8	11	13	15	17	19
21	3222	3243	3263	3284	3304	3324	3345	3365	3385	3404	2	4	6	8	10	12	14	16	18
22	3424	3444	3464	3483	3502	3522	3541	3560	3579	3598	2	4	6	8	10	12	14	15	17
23	3617	3636	3655	3674	3692	3711	3729	3747	3766	3784	2	4	6	7	9	11	13	15	17
24	3802	3820	3838	3856	3874	3892	3909	3927	3945	3962	2	4	5	7	9	11	12	14	16
25	3979	3997	4014	4031	4048	4065	4082	4099	4116	4133	2	3	5	7	9	10	12	14	15
26	4150	4166	4183	4200	4216	4232	4249	4265	4281	4298	2	3	5	7	8	10	11	13	15
27	4314	4330	4346	4362	4378	4393	4409	4425	4440	4456	2	3	5	6	8	9	11	13	14
28	4472	4487	4502	4518	4533	4548	4564	4579	4594	4609	2	3	5	6	8	9	11	12	14
29	4624	4639	4654	4669	4683	4698	4713	4728	4742	4757	1	3	4	6	7	9	10	12	13
30	4771	4786	4800	4814	4829	4843	4857	4871	4886	4900	1	3	4	6	7	9	10	11	13
31	4914	4928	4942	4955	4969	4983	4997	5011	5024	5038	1	3	4	6	7	8	10	11	12
32	5051	5065	5079	5092	5105	5119	5132	5145	5159	5172	1	3	4	5	7	8	9	11	12
33	5185	5198	5211	5224	5237	5250	5263	5276	5289	5302	1	3	4	5	6	8	9	10	12
34	5315	5328	5340	5353	5366	5378	5391	5403	5416	5428	1	3	4	5	6	8	9	10	11
35	5441	5453	5465	5478	5490	5502	5514	5527	5539	5551	1	2	4	5	6	7	9	10	11
36	5563	5575	5587	5599	5611	5623	5635	5647	5658	5670	1	2	4	5	6	7	8	10	11
37	5682	5694	5705	5717	5729	5740	5752	5763	5775	5786	1	2	3	5	6	7	8	9	10
38	5798	5809	5821	5832	5843	5855	5866	5877	5888	5899	1	2	3	5	6	7	8	9	10
39	5911	5922	5933	5944	5955	5966	5977	5988	5999	6010	1	2	3	4	5	7	8	9	10
40	6021	6031	6042	6053	6064	6075	6085	6096	6107	6117	1	2	3	4	5	6	8	9	10
41	6128	6138	6149	6160	6170	6180	6191	6201	6212	6222	1	2	3	4	5	6	7	8	9
42	6232	6243	6253	6263	6274	6284	6294	6304	6314	6325	1	2	3	4	5	6	7	8	9
43	6335	6345	6355	6365	6375	6385	6395	6405	6415	6425	1	2	3	4	5	6	7	8	9
44	6435	6444	6454	6464	6474	6484	6493	6503	6513	6522	1	2	3	4	5	6	7	8	9
45	6532	6542	6551	6561	6571	6580	6590	6599	6609	6618	1	2	3	4	5	6	7	8	9
46	6628	6637	6646	6656	6665	6675	6684	6693	6702	6712	1	2	3	4	5	6	7	7	8
47	6721	6730	6739	6749	6758	6767	6776	6785	6794	6803	1	2	3	4	5	5	6	7	8
48	6812	6821	6830	6839	6848	6857	6866	6875	6884	6893	1	2	3	4	4	5	6	7	8
49	6902	6911	6920	6928	6937	6946	6955	6964	6972	6981	1	2	3	4	4	5	6	7	8
50	6990	6998	7007	7016	7024	7033	7042	7050	7059	7067	1	2	3	3	4	5	6	7	8
51	7076	7084	7093	7101	7110	7118	7126	7135	7143	7152	1	2	3	3	4	5	6	7	8
52	7160	7168	7177	7185	7193	7202	7210	7218	7226	7235	1	2	2	3	4	5	6	7	7
53	7243	7251	7259	7267	7275	7284	7292	7300	7308	7316	1	2	2	3	4	5	6	6	7
54	7324	7332	7340	7348	7356	7364	7372	7380	7388	7396	1	2	2	3	4	5	6	6	7
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9

Digitized by Google

Logarithmen.

Proportionalteile.

Nat. Zahl	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9
55	7404	7412	7419	7427	7435	7443	7451	7459	7466	7474	1	2	2	3	4	5	5	6	7
56	7482	7490	7497	7505	7513	7520	7528	7536	7543	7551	1	2	2	3	4	5	5	6	7
57	7559	7566	7574	7582	7589	7597	7604	7612	7619	7627	1	2	2	3	4	5	5	6	7
58	7634	7642	7649	7657	7664	7672	7679	7686	7694	7701	1	1	2	3	4	4	5	6	7
59	7709	7716	7723	7731	7738	7745	7752	7760	7767	7774	1	1	2	3	4	4	5	6	7
60	7782	7789	7796	7803	7810	7818	7825	7832	7839	7846	1	1	2	3	4	4	5	6	6
61	7853	7860	7868	7875	7882	7889	7896	7903	7910	7917	1	1	2	3	4	4	5	6	6
62	7924	7931	7938	7945	7952	7959	7966	7973	7980	7987	1	1	2	3	3	4	5	6	6
63	7993	8000	8007	8014	8021	8028	8035	8041	8048	8055	1	1	2	3	3	4	5	5	6
64	8062	8069	8075	8082	8089	8096	8102	8109	8116	8122	1	1	2	3	3	4	5	5	6
65	8129	8136	8142	8149	8156	8162	8169	8176	8182	8189	1	1	2	3	3	4	5	5	6
66	8195	8202	8209	8215	8222	8228	8235	8241	8248	8254	1	1	2	3	3	4	5	5	6
67	8261	8267	8274	8280	8287	8293	8299	8306	8312	8319	1	1	2	3	3	4	5	5	6
68	8325	8331	8338	8344	8351	8357	8363	8370	8376	8382	1	1	2	3	3	4	4	5	6
69	8388	8395	8401	8407	8414	8420	8426	8432	8439	8445	1	1	2	2	3	4	4	5	6
70	8451	8457	8463	8470	8476	8482	8488	8494	8500	8506	1	1	2	2	3	4	4	5	6
71	8513	8519	8525	8531	8537	8543	8549	8555	8561	8567	1	1	2	2	3	4	4	5	5
72	8573	8579	8585	8591	8597	8603	8609	8615	8621	8627	1	1	2	2	3	4	4	5	5
73	8633	8639	8645	8651	8657	8663	8669	8675	8681	8686	1	1	2	2	3	4	4	5	5
74	8692	8698	8704	8710	8716	8722	8727	8733	8739	8745	1	1	2	2	3	4	4	5	5
75	8751	8756	8762	8768	8774	8779	8785	8791	8797	8802	1	1	2	2	3	3	4	5	5
76	8808	8814	8820	8825	8831	8837	8842	8848	8854	8859	1	1	2	2	3	3	4	5	5
77	8865	8871	8876	8882	8887	8893	8899	8904	8910	8915	1	1	2	2	3	3	4	4	5
78	8921	8927	8932	8938	8943	8949	8954	8960	8965	8971	1	1	2	2	3	3	4	4	5
79	8976	8982	8987	8993	8998	9004	9009	9015	9020	9025	1	1	2	2	3	3	4	4	5
80	9031	9036	9042	9047	9053	9058	9063	9069	9074	9079	1	1	2	2	3	3	4	4	5
81	9085	9090	9096	9101	9106	9112	9117	9122	9128	9133	1	1	2	2	3	3	4	4	5
82	9138	9143	9149	9154	9159	9165	9170	9175	9180	9186	1	1	2	2	3	3	4	4	5
83	9191	9196	9201	9206	9212	9217	9222	9227	9232	9238	1	1	2	2	3	3	4	4	5
84	9243	9248	9253	9258	9263	9269	9274	9279	9284	9289	1	1	2	2	3	3	4	4	5
85	9294	9299	9304	9309	9315	9320	9325	9330	9335	9340	1	1	2	2	3	3	4	4	5
86	9345	9350	9355	9360	9365	9370	9375	9380	9385	9390	1	1	2	2	3	3	4	4	5
87	9395	9400	9405	9410	9415	9420	9425	9430	9435	9440	0	1	1	2	2	3	3	4	4
88	9445	9450	9455	9460	9465	9469	9474	9479	9484	9489	0	1	1	2	2	3	3	4	4
89	9494	9499	9504	9509	9513	9518	9523	9528	9533	9538	0	1	1	2	2	3	3	4	4
90	9542	9547	9552	9557	9562	9566	9571	9576	9581	9586	0	1	1	2	2	3	3	4	4
91	9590	9595	9600	9605	9609	9614	9619	9624	9628	9633	0	1	1	2	2	3	3	4	4
92	9638	9643	9647	9652	9657	9661	9666	9671	9675	9680	0	1	1	2	2	3	3	4	4
93	9685	9689	9694	9699	9703	9708	9713	9717	9722	9727	0	1	1	2	2	3	3	4	4
94	9731	9736	9741	9745	9750	9754	9759	9763	9768	9773	0	1	1	2	2	3	3	4	4
95	9777	9782	9786	9791	9795	9800	9805	9809	9814	9818	0	1	1	2	2	3	3	4	4
96	9823	9827	9832	9836	9841	9845	9850	9854	9859	9863	0	1	1	2	2	3	3	4	4
97	9868	9872	9877	9881	9886	9890	9894	9899	9903	9908	0	1	1	2	2	3	3	4	4
98	9912	9917	9921	9926	9930	9934	9939	9943	9948	9952	0	1	1	2	2	3	3	4	4
99	9956	9961	9965	9969	9974	9978	9983	9987	9991	9996	0	1	1	2	2	3	3	3	4
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9

Digitized by Google

Antilogarithmen.

Proportionalteile.

Log.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9
·00	1000	1002	1005	1007	1009	1012	1014	1016	1019	1021	0	0	1	1	1	1	2	2	2
·01	1023	1026	1028	1030	1033	1035	1038	1040	1042	1045	0	0	1	1	1	1	2	2	2
·02	1047	1050	1052	1054	1057	1059	1062	1064	1067	1069	0	0	1	1	1	1	2	2	2
·03	1072	1074	1076	1079	1081	1084	1086	1089	1091	1094	0	0	1	1	1	1	2	2	2
·04	1096	1099	1102	1104	1107	1109	1112	1114	1117	1119	0	1	1	1	1	2	2	2	2
·05	1122	1125	1127	1130	1132	1135	1138	1140	1143	1146	0	1	1	1	1	2	2	2	2
·06	1148	1151	1153	1156	1159	1161	1164	1167	1169	1172	0	1	1	1	1	2	2	2	2
·07	1175	1178	1180	1183	1186	1189	1191	1194	1197	1199	0	1	1	1	1	2	2	2	2
·08	1202	1205	1208	1211	1213	1216	1219	1222	1225	1227	0	1	1	1	1	2	2	2	3
·09	1230	1233	1236	1239	1242	1245	1247	1250	1253	1256	0	1	1	1	1	2	2	2	3
·10	1259	1262	1265	1268	1271	1274	1276	1279	1282	1285	0	1	1	1	1	2	2	2	3
·11	1288	1291	1294	1297	1300	1303	1306	1309	1312	1315	0	1	1	1	2	2	2	2	3
·12	1318	1321	1324	1327	1330	1334	1337	1340	1343	1346	0	1	1	1	2	2	2	2	3
·13	1349	1352	1355	1358	1361	1365	1368	1371	1374	1377	0	1	1	1	2	2	2	3	3
·14	1380	1384	1387	1390	1393	1396	1400	1403	1406	1409	0	1	1	1	2	2	2	3	3
·15	1413	1416	1419	1422	1426	1429	1432	1435	1439	1442	0	1	1	1	2	2	2	3	3
·16	1445	1449	1452	1455	1459	1462	1466	1469	1472	1476	0	1	1	1	2	2	2	3	3
·17	1479	1483	1486	1489	1493	1496	1500	1503	1507	1510	0	1	1	1	2	2	2	3	3
·18	1514	1517	1521	1524	1528	1531	1535	1538	1542	1545	0	1	1	1	2	2	2	3	3
·19	1549	1552	1556	1560	1563	1567	1570	1574	1578	1581	0	1	1	1	2	2	3	3	3
·20	1585	1589	1592	1596	1600	1603	1607	1611	1614	1618	0	1	1	1	2	2	3	3	3
·21	1622	1626	1629	1633	1637	1641	1644	1648	1652	1656	0	1	1	2	2	2	3	3	3
·22	1660	1663	1667	1671	1675	1679	1683	1687	1690	1694	0	1	1	2	2	2	3	3	3
·23	1698	1702	1706	1710	1714	1718	1722	1726	1730	1734	0	1	1	2	2	2	3	3	4
·24	1738	1742	1746	1750	1754	1758	1762	1766	1770	1774	0	1	1	2	2	2	3	3	4
·25	1778	1782	1786	1791	1795	1799	1803	1807	1811	1816	0	1	1	2	2	2	3	3	4
·26	1820	1824	1828	1832	1837	1841	8145	1849	1854	1858	0	1	1	2	2	3	3	3	4
·27	1862	1866	1871	1875	1879	1884	1888	1892	1897	1901	0	1	1	2	2	3	3	3	4
·28	1905	1910	1914	1919	1923	1928	1932	1936	1941	1945	0	1	1	2	2	3	3	4	4
·29	1950	1954	1959	1963	1968	1972	1977	1982	1986	1991	0	1	1	2	2	3	3	4	4
·30	1995	2000	2004	2009	2014	2018	2023	2028	2032	2037	0	1	1	2	2	3	3	4	4
·31	2042	2046	2051	2056	2061	2065	2070	2075	2080	2084	0	1	1	2	2	3	3	4	4
·32	2089	2094	2099	2104	2109	2113	2118	2123	2128	2133	0	1	1	2	2	3	3	4	4
·33	2138	2143	2148	2153	2158	2163	2168	2173	2178	2183	0	1	1	2	2	3	3	4	4
·34	2188	2193	2198	2203	2208	2213	2218	2223	2228	2234	1	1	2	2	3	3	4	4	5
·35	2239	2244	2249	2254	2259	2265	2270	2275	2280	2286	1	1	2	2	3	3	4	4	5
·36	2291	2296	2301	2307	2312	2317	2323	2328	2333	2339	1	1	2	2	3	3	4	4	5
·37	2344	2350	2355	2360	2366	2371	2377	2382	2388	2393	1	1	2	2	3	3	4	4	5
·38	2399	2404	2410	2415	2421	2427	2432	2438	2443	2449	1	1	2	2	3	3	4	4	5
·39	2455	2460	2466	2472	2477	2483	2489	2495	2500	2506	1	1	2	2	3	3	4	5	5
·40	2512	2518	2523	2529	2535	2541	2547	2553	2559	2564	1	1	2	2	3	4	4	5	5
·41	2570	2576	2582	2588	2594	2600	2606	2612	2618	2624	1	1	2	2	3	4	4	5	5
·42	2630	2636	2642	2649	2655	2661	2667	2673	2679	2685	1	1	2	2	3	4	4	5	6
·43	2692	2698	2704	2710	2716	2723	2729	2735	2742	2748	1	1	2	3	3	4	4	5	6
·44	2754	2761	2767	2773	2780	2786	2793	2799	2805	2812	1	1	2	3	3	4	4	5	6
·45	2818	2825	2831	2838	2844	2851	2858	2864	2871	2877	1	1	2	3	3	4	5	5	6
·46	2884	2891	2897	2904	2911	2917	2924	2931	2938	2944	1	1	2	3	3	4	5	5	6
·47	2951	2958	2965	2972	2979	2985	2992	2999	3006	3013	1	1	2	3	3	4	5	5	6
·48	3020	3027	3034	3041	3048	3055	3062	3069	3076	3083	1	1	2	3	4	4	5	6	6
·49	3090	3097	3105	3112	3119	3126	3133	3141	3148	3155	1	1	2	3	4	4	5	6	6
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9

Digitized by Google

Antilogarithmen.

Proportionalteile.

Log.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9
·50	3162	3170	3177	3184	3192	3199	3206	3214	3221	3228	1	1	2	3	4	4	5	6	7
·51	3236	3243	3251	3258	3266	3273	3281	3289	3296	3304	1	2	2	3	4	5	5	6	7
·52	3311	3319	3327	3334	3342	3350	3357	3365	3373	3381	1	2	2	3	4	5	5	6	7
·53	3388	3396	3404	3412	3420	3428	3436	3443	3451	3459	1	2	2	3	4	5	6	6	7
·54	3467	3475	3483	3491	3499	3508	3516	3524	3532	3540	1	2	2	3	4	5	6	6	7
·55	3548	3556	3565	3573	3581	3589	3597	3606	3614	3622	1	2	2	3	4	5	6	7	7
·56	3631	3639	3648	3656	3664	3673	3681	3690	3698	3707	1	2	3	3	4	5	6	7	8
·57	3715	3724	3733	3741	3750	3758	3767	3776	3784	3793	1	2	3	3	4	5	6	7	8
·58	3802	3811	3819	3828	3837	3846	3855	3864	3873	3882	1	2	3	4	4	5	6	7	8
·59	3890	3899	3908	3917	3926	3936	3945	3954	3963	3972	1	2	3	4	5	5	6	7	8
·60	3981	3990	3999	4009	4018	4027	4036	4046	4055	4064	1	2	3	4	5	6	6	7	8
·61	4074	4083	4093	4102	4111	4121	4130	4140	4850	4159	1	2	3	4	5	6	7	8	9
·62	4169	4178	4188	4198	4207	4217	4227	4236	4246	4256	1	2	3	4	5	6	7	8	9
·63	4266	4276	4285	4295	4305	4315	4325	4335	4345	4355	1	2	3	4	5	6	7	8	9
·64	4365	4375	4385	4395	4406	4416	4426	4436	4446	4457	1	2	3	4	5	6	7	8	9
·65	4467	4477	4487	4498	4508	4519	4529	4539	4550	4560	1	2	3	4	5	6	7	8	9
·66	4571	4581	4592	4603	4613	4624	4634	4645	4656	4667	1	2	3	4	5	6	7	9	10
·67	4677	4688	4699	4710	4721	4732	4742	4753	4764	4775	1	2	3	4	5	7	8	9	10
·68	4786	4797	4808	4819	4831	4842	4853	4864	4875	4887	1	2	3	4	6	7	8	9	10
·69	4898	4909	4920	4932	4943	4955	4966	4977	4989	5000	1	2	3	5	6	7	8	9	10
·70	5012	5023	5035	5047	5058	5070	5082	5093	5105	5117	1	2	4	5	6	7	8	9	11
·71	5129	5140	5152	5164	5176	5188	5200	5212	5224	5236	1	2	4	5	6	7	8	10	11
·72	5248	5260	5272	5284	5297	5309	5321	5333	5346	5358	1	2	4	5	6	7	9	10	11
·73	5370	5383	5395	5408	5420	5433	5445	5458	5470	5483	1	3	4	5	6	8	9	10	11
·74	5495	5508	5521	5534	5546	5559	5572	5585	5598	5610	1	3	4	5	6	8	9	10	12
·75	5623	5636	5649	5662	5675	5689	5702	5715	5728	5741	1	3	4	5	7	8	9	10	12
·76	5754	5768	5781	5794	5808	5821	5834	5848	5861	5875	1	3	4	5	7	8	9	11	12
·77	5888	5902	5916	5929	5943	5957	5970	5984	5998	6012	1	3	4	5	7	8	10	11	12
·78	6026	6039	6053	6067	6081	6095	6109	6124	6138	6152	1	3	4	6	7	8	10	11	13
·79	6166	6180	6194	6209	6223	6237	6252	6266	6281	6295	1	3	4	6	7	9	10	11	13
·80	6310	6324	6339	6353	6368	6383	6397	6412	6427	6442	1	3	4	6	7	9	10	12	13
·81	6457	6471	6486	6501	6516	6531	6546	6561	6577	6592	2	3	5	6	8	9	11	12	14
·82	6607	6622	6637	6653	6668	6683	6699	6714	6730	6745	2	3	5	6	8	9	11	12	14
·83	6761	6776	6792	6808	6823	6839	6855	6871	6887	6902	2	3	5	6	8	9	11	13	14
·84	6918	6934	6950	6966	6982	6998	7015	7031	7047	7063	2	3	5	6	8	10	11	13	15
·85	7079	7096	7112	7129	7145	7161	7178	7194	7211	7228	2	3	5	7	8	10	12	13	15
·86	7244	7261	7278	7295	7311	7328	7345	7362	7379	7396	2	3	5	7	8	10	12	13	15
·87	7413	7430	7447	7464	7482	7499	7516	7534	7551	7568	2	3	5	7	9	10	12	14	16
·88	7586	7603	7621	7638	7656	7674	7691	7709	7727	7745	2	4	5	7	9	11	12	14	16
·89	7762	7780	7798	7816	7834	7852	7870	7889	7907	7925	2	4	5	7	9	11	13	14	16
·90	7943	7962	7980	7998	8017	8035	8054	8072	8091	8110	2	4	6	7	9	11	13	15	17
·91	8128	8147	8166	8185	8204	8222	8241	8260	8279	8299	2	4	6	8	9	11	13	15	17
·92	8318	8337	8356	8375	8395	8414	8433	8453	8472	8492	2	4	6	8	10	12	14	15	17
·93	8511	8531	8551	8570	8590	8610	8630	8650	8670	8690	2	4	6	8	10	12	14	16	18
·94	8710	8730	8750	8770	8790	8810	8831	8851	8872	8892	2	4	6	8	10	12	14	16	18
·95	8913	8933	8954	8974	8995	9016	9036	9057	9078	9099	2	4	6	8	10	12	15	17	19
·96	9120	9141	9162	9183	9204	9226	9247	9268	9290	9311	2	4	6	8	11	13	15	17	19
·97	9333	9354	9376	9397	9419	9441	9462	9484	9506	9528	2	4	7	9	11	13	15	17	20
·98	9550	9572	9594	9616	9638	9661	9683	9705	9727	9750	2	4	7	9	11	13	16	18	20
·99	9772	9795	9817	9840	9863	9886	9908	9931	9954	9977	2	5	7	9	11	14	16	18	20
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9

Digitized by Google

Digitized by Google

Sachregister.

Bearbeitet von Dr. H. Weyland-Jena.

Abderhalden, Isolierung des Tyrosins nach 614.
— u. Barker, Isolierung des Leucins nach 604.
— u. Pregl, polypeptidartiger Körper 1247.
Abel u. Drechsel, Darstellung der Carbaminsäure aus Harn 581.
Absorption d. Lichtes vgl. Spektrophotometrie.
Absorptionsgesetze 58.
Absorptionsstreifen im Harnspektrum 2.
Absorptionsverhältnis 60.
Absorptionszelle z. Spektrophotometrie 56.
Acetanilid 1480.
Acetessigsäure, Vorkommen im Harn 236. 238. **265**. — Eigenschaften **266**. 679. — Nachweis 268. — Eisenchloridreaktion von Gerhardt 268. — Reaktion von Arnold 270. — Jodproben 271. — Quantitative Bestimmung neben Aceton 272. — nach Embden u. Schliep 273. — nach Folin 273.
Acetol, Entstehung aus Zucker 294.
Aceton, Vorkommen im Harn 236. **238**. — Eigenschaften **241**. 318. 679. — Farbenreaktionen 243. — Nachweis 244. — Jodoformprobe von Lieben 244. — nach Gunning 246. — Probe von Reynolds 247. — Legal 247. — Indigoprobe 249. — Reaktion von Sternberg 249. — Furfurolprobe 249. — Hydroxylaminreaktion 249. — Vanillin-Salzsäureprobe 250. — Salicylaldehydprobe 250. — Isonitrilprobe 250. — Probe von Denigès-Oppenheimer 251. — Wahl der Methode zum Nachweis 251. — Bestimmung des Acetons 254. — als Jodoform 254. — nach Messinger u. Huppert 254. — Embden u. Schmitz 259. — Merk 260. — Auld 260. — mittelst Phenylhydrazins 261. — als Paranitrophenylhydrazon 262. — mittelst Merkurisulfat 263. — Vaporimetrische Bestimmung 264. — Kolorimetrische Bestimmung 265.
Acetonhydrazon 242.
Acetonkörper 236.
Acetonurie 237. 239.
Achelis, Darstellung d. Methylguanidins 698.
Achroodextrin 466.
Acidalbumin 1084. 1104.
Acidität des Harns 20. 24. 143. — Stärke der 24. 143. — titrierbare 26. 143. — Bestimmung 1613. — Beziehung z. Uratsediment 1543. 1545.
Acidosekörper 236.
Acidosis 236.
Acrée, Tryptophanreaktion 1093.
Actinomycespilz i. Harn 1594. 1597.
Adamkiewiczsche Reaktion 865. — Tryptophanreaktion 1092. 1099. 1107. 1177. 1260.
Adenase 926. 928.
Adenin 904. 908. 919. 920. 1204. — Vorkommen 948, 1082 e, k, p, t. — Eigenschaften 949. — Darstellung u. Nachweis 954. 989. 995. 996.
Adenosin 929. 949. 1082 a, f, q.
Adenosindesamidase 1082 h.
Adialysable Harnbestandteile 18. 728. 1100. 1177. — Fällung durch Tannin 1176. 1609. 1612.
Adiposurie 205.
Adlers Benzidinprobe 1229. — Malachitgrünprobe 1231.
Adrenalin 727.
Ätherschwefelsäure, Vorkommen im Harn 87. — physiologische 89. — pathologische 90.

Ätherschwefelsäuren der Phenole 764.
Äthylalkohol, Vorkommen 1455. — Eigenschaften u. Nachweis 1456. — Bestimmung 1456.
Äthylidenmilchsäure, inaktive 224.
Äthylsulfid, Vorkommen 759. — Eigenschaften 760. — Darstellung 762. — Nachweis 762.
Äthylsulfid, Bildung von — im Darm 625.
Agglutinine i. Harn 1609.
Agglutinogene Substanz 1609. 1611.
Aktivität, optische, des Harns 3. 45.
Alanin, Vorkommen im Harn 585. **594**. — Eigenschaften 595. — physiologisches Verhalten 597. — Isolierung 597.
Albumin 1101. — Eigenschaften 1101. — Nachweis 1106. — durch Koagulation (Kochprobe) 1106. — durch Fällung als Acidalbumin 1110. — d. konz. Salpetersäure 1110. — d. Neutralsalze 1111. — durch Fällung durch spez. Reagentien 1112. — durch Ferrocyanwasserstoff 1112. — durch Nitroprussidnatrium 1113, — durch Rhodankalium 1113, — durch Metaphosphorsäure 1114. — durch Trichloressigsäure 1114. — durch Salicylsulfosäure 1115. — durch Asaprol 1115. — durch Aseptol 1115. — d. Pikrinsäure 1116. — durch Phenol 1116. — durch Sozojodolsäure 1117. — d. Wolframsäure 1117. — durch Molybdänsäure 1117. — d. Chromsäure 1118. — durch Jodjodwasserstoff 1118. — d. Chlorkalk 1118. — d. Phosphorwolframsäure 1118. — d. Phosphormolybdänsäure 1118. — d. Quecksilbersalze 1118. — durch Jodwismutkalium 1120. — d. Ammoniummolybdat 1120. — durch Eisenchlorid 1120. — durch Ammoniumpersulfat 1120. — durch Formol 1120. — durch Alkohol 1121. — durch Anilinfarben 1121. — Nachweis von Albumin als solchem 1122. — Abscheidung des 1124. — Quantitative Bestimmung 1127. — Bestimmung des Gesamteiweiß 1127. — Gesonderte Bestimmung des Albumin u. Globulin 1150. — nach Hammarsten 1150. — nach Pohl 1151. — nach Oswald 1152. — mit der Hellerschen Probe 1152. — mit dem Polarimeter 1153.
Albumine 1084. 1085. 1097. — krystallisiertes 1102.
Albuminurie, physiologische 1096. 1172. — pathologische 1007. 1097. — transitorische 1098.
Albumoseähnlicher Körper aus Morgenharn 1120.
Albumosen 1084. 1097. 1115. 1118. 1191. — Verdauungsalbumosen 1194. — Verdauungspepton 1200. — Harnalbumosen 1201. — Albumosurie 1201. — febrile 1204. — Nachweis nach Aldor-Salkowski 1211. — primäre 1192. — sekundäre 1084. 1193. 1205.
v. Alfthan, Nachweis der Pentosen nach 371.
Aliphatische Verbindungen im Harn 191.
Alizarinrot, Verhalten gegen Phosphate 125.
Alkalialbuminat 1084. 1104. — Verhalten gegen Phosphate 1105.
Alkaloidartige Bestandteile d. Harns 734.
Alkaloide 1115—1119. — Verhalten im Organismus 1484. — Siehe bei den einzelnen Alkaloiden.
Alkaloidgiftigkeit d. Harns 729.
Alkaloidreaktionen 1087.
Alkaptochromreaktion 856.
Alkaptonsäuren 794. **850**. — Reduktionsvermögen 302.
Alkaptonurie 850. 1313.
Alkohol zur Fällung des Eiweisses 1121. — Einfluß auf die Purinausscheidung 914. 1007. Siehe auch Äthylalkohol.
Alkoholgärung im Harn 345. Vgl. auch Gärung, alkoholische, zum Nachweis des Zuckers im Harn 345.
Alkoholhefe 29.
Allantoin **904**. 908. 925. 1065. — Gehalt der Nährstoffe an 916—919. — physiol. Verhalten 1004 ff. — Entstehung aus Harnsäure 1026. 1032. — Vorkommen u. physiolog. Verhalten 495. 501. 503. 540. 641. 1066. 1082c. Bildung 1068. — Eigenschaften 1070. — Darstellung 1072. — Nachweis 1073. — Bestimmung 1075. — mittelst des Ag.-salzes 1075. — nach Wiechowski 1076. — Allantoinsilber 1070. — Allantoinquecksilberoxyd 1070. — Allantoinsäure 1071. — Eigenschaften 554. 564. — Reduktionsvermögen 302. — als Oxalsäurebildner 212. — Verhalten gegen Phosphorwolframsäure 491.
Allantursäure 1071.

Digitized by Google

Allen, Reaktion auf Phenol 769.
Allen, Orcinreaktion auf Pentosen 376.
Allihn, Bestimmung des Zuckers nach 409.
Allotellursäure als Eiweisreag. 1088.
Alloxan, Eigenschaften 540. — Entstehung aus Harnsäure 1028. —
Alloxanthin 1029.
Alloxyproteinsäuren 1242. 1304. Siehe auch Proteinsäuren.
Alménsche Lösung 1099. 1116. 1178.
Almén, Nachweis des Zuckers nach 313. — -Nylandersche Probe 313.
Aloe, Verhalten im Organismus 1475.
Aloinproben auf Hämoglobin 1229.
Ameisensäure im Harn, erzeugt durch Mikroorganismen 30. — Vorkommen im Harn 195. 197. — Eigenschaften, Nachweis u. Bestimmung 199. — Entstehung aus Huminkörpern 1311.
p-Amidophenol, Ausscheidung, Nachweis 1479.
Aminoameisensäure 577.
Aminoessigsäure vgl. Glykokoll.
Aminoisobutylessigsäure-α, vgl. Leucin.
Aminopropionsäure, vgl. Alanin.
Aminopurine 904. 919.
6-Aminopurin 948.
6-Amino-, 2,8-Dioxypurin 908.
2-Amino-, 6-Oxypurin 954.
Aminosäuren des Harns 1083. — als Muttersubstanzen der Acetonkörper 238. — Vorkommen im Harn 585. — Eigenschaften 464. 536. 539. — Bestimmung im allgemeinen 585. — Bestimmung der A. bzw. des Aminosäurenstickstoffs 641. — Methode von Pfaudler, Krüger u. Schmid u. van Leersum 641. — Darstellung der β-Naphtalinsulfoaminosäuren 641. — die Naphtylcyanatmethode von Neuberg und Manasse 642. — Bestimmung nach Glaessner 642. — die Formoltitration nach Sörensen-Henriques 643.
Aminovaleriansäure-δ, als Zersetzungsprodukt 640.
Ammoniak, Vorkommen von, im Harn im allgemeinen 28. 503. — Verhalten gegen Phosphorwolframsäure 491. — Vorkommen im Harn 165. **517**. — Eigenschaften 520. — Nachweis 524. — Bestimmung 525. — nach Schlösing 526. — durch Abdestillieren des Ammoniaks 528. — nach Nencki u. Zaleski 529. — nach Steyrer 530. — nach Krüger, Reich, u. Schittenhelm 531. — durch Ausblasen des Ammoniaks 533. — Bestimmung mit Platinchlorid 534. — mit Nesslerschem Reagens 535. — durch Formoltitration 535 (vgl. auch 646). — Azotometrische Bestimmung 536. — Titrimetrische Bestimmung mit Hypobromit 536. — Entfernung des Ammoniaks aus dem Harn 537.
Ammoniumcarbonat, Bildung aus Harnstoff 549.
Ammoniumchlorid im Harn 74.
Ammoniumcyanat, Beziehungen zum Harnstoff 524. 548.
Ammoniummagnesiumsulfat in Sedimenten 1552.
Ammoniummolybdat zur Fällung des Eiweisses 1120.
Ammoniumpersulfat zur Fällung von Eiweisses 1120.
Ammoniumsalze, Vorkommen im allgemeinen 1, 69. 165.
Ammoniumurat, Aussalzen durch Ammoniumsulfat 19.
Amoeba coli im Harn 1599.
Amphibien, Harn der 32.
Amygdophenin 1481.
Amylalkohol, Beziehung zu Harnfarbstoffen 891. 893. 1284. 1340. 1395. 1409.
Amylodextrin, Fällung durch Phosphorwolframsäure 876.
Amyloidcylinder 1587.
Anilin, Verhalten u. Nachweis 1479.
Anilinacetatpapier als Reagens auf Pentosen 363.
Anilinfarben zur Fällung des Eiweisses 1121.
Anionen im Harn 72.
Anorganische Bestandteile des Harns, vgl. Bestandteile, anorganische.
— zufällige Bestandteile des Harns 1414.
Anten, Bestimmung von JH. 1449.
Anthrachinonharne 1475. 1478.
Antifebrin 1480.
Antimon 1439.
Antipepton 1267.
Antipyrin 1115. 1481.
Antipyrylharnstoff 1482.
Antitrypsin s. Trypsin.
Antoxyproteinsäure **1237**. 1304 (siehe auch Proteinsäuren).
Apolysin 1481.
Arabinose-α 359.
Arabinose-l **358**. 438.

Digitized by Google

Arabinose-r, racemische 354. **357.**
Arabinosehydrazon 334.
Arabinoseosazon 334.
Arabinose-r-Phenylosazon 357.
Aräometer 4.
Arginase 540. 639.
Arginin 540. 585. **635.** 684. — Vorkommen u. Eigenschaften 636. — physiolog. Verhalten 639. — Nachweis u. Darstellung 640. — Fällung durch Phosphorwolframsäure 876.
Arnold, Nachweis der Acetessigsäure nach 270.
— Chloridbestimmung nach 77.
Aromatische Verbindungen im Harn 764.
Aron, H., Bestimmung d. Calciums nach 168.
Arsen, Vorkommen 1427. — Eigenschaften 1428. — Nachweis 1429. — Bestimmung 1438.
Asaprol als Eiweissreagens 1088. 1115.
Aschenbestandteile des Harns. Mengenverhältnis 70. — bei Tieren 71.
Asparagin, Biuretreaktion 1090.
Aspirin, Verhalten im Organismus 1467.
Atomgewichte 1615.
Atophan, Einfluss auf die Purinausscheidung 915. 916. 1005. 1006. 1007. 1010. 1032.
Atropin, Einfluss auf die Purinausscheidung 915. 1005.
Aufrecht, Schnellbestimmung des Eiweisses 1146.
Auld, Bestimmung des Acetons nach 260.
Aussalzen des Harns 19. — der Eiweissstoffe 1085. 1086. 1117.
Autenrieth, Bestimmung d. Morphiums 1493.
— u. Barth. Bestimmung der Oxalsäure nach 217.
— u. Bernheim, Bestimmung d. Kaliums 164.
Axenfeld, Reaktion auf Eiweiss 1096. 1177.
Azofarbstoffe, Sulfosäure als Eiweissreagens 1088.

Bacillus bifidus communis 863.
Bakterien, Vorkommen in Sedimenten 1584. — harnstoffzersetzende 550.
Bakteriencylinder 1588.
Bacterium acidi urici 1031. — coli commune 550. 1594. — fluorescens liquefaciens 550. — gliscrogenum 30. — lactis aerogenes 29. 459. — typhi 1594. — ureae 1547. — vulgare 1594. 1597.
Bacteriurie 1594.
Baldriansäure, Vorkommen 198.
Bang, Nachweis von Albumosen 1214.
— Bestimmung des Zuckers nach 404.
Barbados-Aloin 1229.
Basen, bekannter Konstitution aus normalem Harn 694. — unbekannter Konstitution 707. — Substanz von Baumstark 707. — von Meissner 708. — von Pouchet 708. — Base $C_7H_{15}NO_2$ (Dombrowski, Kutscher und Lohmann) 709. — Gynesin 716. — Mingin 717. — Kynosin 717 — Protaminähnliche Verbindung (Engeland) 718. — aus Phosphorharn 718 bis 721. — anorganische im Harn 154.
Bauer, Nachweis der Laktose nach 460.
Baumann, Bestimmung d. Homogentisinsäure 861.
— Bestimmung der gepaarten Schwefelsäure nach 97.
— Bestimmung der Sulfatschwefelsäure nach 98.
Baumstarks Base 707.
Beckmannscher Apparat 13.
Beckmann-Thermometer 14.
Beddard, Nachweis von Indigo 880.
Béla, Nachweis des Acetons nach 248.
Bellocq, Bestimmung d. Gesamteiweisses 1137.
Bence-Jonescher Eiweisskörper 1158. — Vorkommen 1184. — Eigenschaften 1186. — Nachweis u. Darstellung 1189.
Benedict, Bestimmung des Gesamtschwefels nach 110.
Benedict, St. R. Bestimmung des reduzierenden Zuckers 1613.
Benedict u. Myers, Bestimmung d. Gesamtkreatinins nach 682.
Benzaldehyd als Eiweissreagens 1095.
Benzidinprobe, zum Hämoglobinnachweis 1223. 1229.
Benzoeglykuronsäure 828. 1505. 1506. 1515. 1517.
Benzoesäure, Vorkommen, Eigenschaft, Nachweis, Bestimmung 815—828. 840. — Lösungskoeffizient 832.
Benzoesäureester der Kohlehydrate 325. 327. — Gewinnung 325. — Eigenschaften 328.
Benzoylcystin 325.
Benzoylierung 325.

Benzoyltraubenzucker 327. — Verseifung des 329.
Benzoylverbindungen der Diamine 686. 690. 691. 741. 744.
Bergell, Bestimmung der β-Oxybuttersäure nach 281.
Berglund, Bestimmung von Bromwasserstoff 1451.
Bernsteinsäure, Vorkommen 218. 1349. — Eigenschaften 219. — Darstellung 220. — Nachweis 221.
Berthelot, Reaktion auf Phenol 771.
Bertrand, Bestimmung des Zuckers nach 406.
Bestandteile, normale des Harns 65. — anorganische des Harns im allgemeinen 1. — im besonderen 65. 69. — — pathologische des Harns im allgemeinen 1. — organische des Harns 191. — giftige im Harn 722. — zufällige 1414 ff.
Bial, Orcinprobe auf Pentosen nach 368.
Bierhefe 347.
Bilicyanin 1352. — Spektrum 1383.
Bilifuscin 1351. — Verh. gegen Diazoreagens 1349.
Biliprasin 1351. — Verhalten gegen Diazoreagens 1349. — Nachweis 1366.
Bilirubin, Eigenschaften 1346. — Substitutionsprodukte mit Halogenen 1348. — Oxydation 1349. — Diazoreaktion 1349. — Nachweis 1366. — Bestimmung 1367 — titrimetrisch nach Jolles 1367. — gewichtsanalytisch, Stadelmann 1369. — kolorimetrisch nach Bouma 1369. — Umwandlung in Urobilin 1377. — Entstehung aus Cholecyanin 1352. — Guajakprobe 1227. — Ausfällung nach Bouma 1394. — in Sedimenten 1570. 1600.
Biliverdin 1350. — Verhalten gegen Diazoreagens 1349.
Biologische Reaktion auf Eiweiss 1123. 1156.
Biotoxin 731.
Biurate 1016. — physikalische Konstanten 1018.
Biuret 555.
Biuretreaktion 1089. 1099. 1149. 1177. 1260. 1270. — durch Urobilin 1382. 1383.
Black, Nachweis der β-Oxybuttersäure nach 280.
Blei, Vorkommen 1439.
Bleibtreu, Bestimmung des Harnstoffs nach 574.
Bleigicht 1007.
Bleisalze zur Fällung des Eiweiss 1087.
Bloxam, Nachweis des Harnstoffs nach 559.
Blut, Reaktion des normalen 27. — im Harn 1398. — in Sedimenten 1577.
Bluteiweiss im Harn 1123.
Blutkörperchen, Vorkommen im allgemeinen 1. — als Farbstoff im Harn 2.
Blutschatten 1578.
Boas, Nachweis der Milchsäure nach 229.
— Paraphenylendiaminchlorhydratprobe 1231.
Bocchi, Darstellung des Urochrom 1300.
Bocchi u. Ghelfi, Chromoxyproteinsäure 1303.
Boedecker, massanalytische Bestimmung d. Eiweiss 1148.
Bohrisch, Nachweis des Acetons nach 245 f. 251.
Borchardt, Nachweis der Fruktose nach 439. 441.
Borneolglykuronsäure 1505. 1511.
Borsäure. Vorkommen 1453.
Borissow, Nachweis des Cystins nach 626.
Böttgersche Probe zum Nachweis des Zuckers 311.
Bouma, Bestimmung des Bilirubin 1369. — Ausfällung des Bilirubin 1394.
— Titration des Indigorotes 811.
Brandberg, Bestimmung des Gesamteiweiss 1138.
Braunstein, Bestimmung des Harnstoffs nach 573.
Brechungsindex 3.
Brenzkatechin im Harn 764. — Vorkommen 793. — Eigenschaften 794. — Reduktionsvermögen 302. — Nachweis 795. — Entstehung aus Huminstoffen 1311. 1312.
Brenzkatechinmethyläther. Vorkommen 1469.
Brenzkatechinschwefelsäure 793.
Bromanil 1309.
Bromphenylmerkaptursäure 1505.
Bromsäure. Vorkommen 1453.
Bromuropyrryl 1308.
Bromwasserstoff, Vorkommen 1450. — Bestimmung 1451—1452.
Browinski u. Dombrowski, Urochrombestimmung 1293.
Buchner, Nachweis der Laktose nach 457. 459.
— Nachweis des Zuckers nach 306.

Digitized by Google

Bunge, Bestimmung des Kaliums und Natriums nach 160. — des Eisens nach 181.
— u. Schmiedeberg, Hippusäuredarstellung 822. — Bestimmung 825.
Bunsen, Bestimmung des Harnstoffs nach 566.
Buttersäure, normale, Vorkommen im Harn 195. 197. 238. — Eigenschaften, Nachweis und Bestimmung 201. —Entstehung aus Huminstoffen 1311.
Buttersäuregärung 29. 459. 476.
Buttersäurehefe 347.
Butylchloralsäure 1505.

Cadaverin, Vorkommen 683. 688. Eigenschaften 688. Alkaloidreaktion 689. — Benzoylverbindung 690. — Phenylcyanatverbindung 690. — Physiologisches Verhalten 691. — Darstellung u. Nachweis 691.
Cadmium, Vorkommen 1440.
Caignet, Bestimmung von HBr 1452.
Calcium, Vorkommen 165. — Eigenschaften 167. — Nachweis 167. — Bestimmung 167. — durch Wägen 167. — als Ätzkalk 167. — als Calciumsulfat 168. — durch Titration 169. — acidimetrisch 169. — mit Permanganat 169. — Oxydimetrische Bestimmung mittelst Säuregemischveraschung 170. — Indirekte Bestimmung des Calciums und Magnesiums 173.
Calciumchlorid, Einfluss auf die Purinausscheidung 916. 1005.
Calciumoxalatsteine 1603.
Calciumphosphat, ausgesalzen durch Ammoniumsulfat 19.
Calciumsalze, Vorkommen im allgemeinen 1, 70.
Camerer-Arnstein, Bestimmung des Gesamtpurinstickstoffs 941.
Cammidge, Nachweis von Pentosen nach 372.
Camphenglykolmonoglykuronsäure 1512.
Camphoglykuronsäure 1505. 1514. 1517.
Capaldi, Bestimmung d. Kynurensäure 877.
Carbamid vgl. Harnstoff 538.
Carbaminsäure, Vorkommen im Harn 577. — Eigenschaften 578. — Darstellung 581. — Nachweis 582. — Quantitative Bestimmung 583. — Verhalten gegen Phosphorwolframsäure 491.
Carbolsäure s. Phenol.
Carbolharn 1286. 1307. 1311. 1571.
Carbonylsäuren, Vorkommen 1503. — Nachweis 1505.
Carcinom, Ausscheidung von neutralem Schwefel bei 103. — Oxyproteinsäuren bei 1236. 1248. — melanotisches, Einfluss auf die Farbe des Harns 2.
Carlson, Nachweis d. Arsen 1437.
Carmin 1082 f., 1082 n.
Carminfibrin 1527.
Carniferin 1269.
Carnitin 711. 719. 727.
Carnivorenharn 793.
Caryophyllen 1473.
Casein, fäulnishemmende Wirkung 90.
Caseinverfahren, z. Bestimmung d. peptischen Wirkung des Harns 1528.
Cazeneuve, Darstellung der Hippursäure 824. — Bestimmung 827.
— u. Hugounenq, Bestimmung des Harnstoffs nach 564.
Cerebron 1568.
Cephalopodenharn 32.
Charnass, Bestimmung der Milchsäure nach 233.
Chinasäure, als Muttersubstanz der Hippursäure 817.
Chinäthonsäure 1505. 1515. 1517.
Chinin, Vorkommen 1484. — Nachweis 1485. — Bestimmung 1487. — Einfluß auf die Purinausscheidung 915. 1005.
Chinolin, Verhalten im Organismus 1490.
Chinon, als Eiweissreagens 1095.
Chlor, organisch gebundenes im Harn 74.
Chloralhydrat 1461.
Chlorammonium im Harn 74.
Chlorcalcium im Harn 75.
Chlorhämatin 1221.
Chloride, Eigenschaften 74. — Bestimmung 75. — Verfahren nach Volhard u. Falck 76. — nach Salkowski 78. — nach Corvi 78. — Bödtker 78. — nach Gruber u. von Mering 78. — nach Will. M. Dehn 79. — nach Mohr 79. — nach Arnold 77. — nach Gay-Lussac 83. — mit der Säuregemischveraschung nach A. Neumann 84. — nach Zuelzer 84. — nach E. Riegler 86. — Modifikation bei jod- und bromhaltigem Harn 86. — Bestimmung d. Titration 75. — Nachweis 75.
Chlorkalium im Harn 74.
Chlorkalk, als Eiweissfällungsmittel 1118.
Chlormagnesium im Harn 75.
Chlornatrium im Harn 74.

Digitized by Google

Chloroform, Vorkommen 1459. — Eigenschaften u. Nachweis 1460.
Chlorretention 73.
Chlorsäure, Vorkommen 1442.
Chlorwasserstoff, Vorkommen 72 (vgl. auch Salzsäure).
Cholalsäuren 1273.
Cholecyanin 1347. 1349. 1352. — Spektrum 1367. — Probe v. Stokvis 1357.
Cholesteriline 208.
Cholesterin, Vorkommen im Harn 206. 207. — Eigenschaften 208. — Nachweis 210. — in Sedimenten 1565. — in Konkrementen 1600. 1602. 1604. — Ester 1568.
Choletelin 1346. 1353. — Spektrum 1367. 1383. — Trennung von Urobilin 1398 (s. auch Urobilin).
Choleverdin 1352.
Cholin 211. 702.
Cholonsäure 1275.
Cholsäure 624. 1273.
Chondroalbumin 730. 1170. 1257. 1258.
Chondroitinsäure, Fällungsmittel für Albumosen 1199. 1257.
Chondroitinschwefelsäure 1100. 1166. 1170. 1173. 1176. — als Eiweissreagens 1088. 1098. — Vorkommen 1082o. 1256. — Eigenschaften 1257. — Konstitution 1261. — Nachweis 1261. — Bestimmung 1263.
Chondroitinschwefelsaures Albumin 1173. 1257.
Chondroproteid 1169. 1178. 1258. 1260.
Chondrosin 1260.
Chromogene 1283.
Chromoxyproteinsäure 1303.
Chromsäure, als Eiweissfällungsmittel 1118.
Chromtropsäuren, als Eiweissfällungsmittel 1088.
Chrysarobin, Verhalten im Organismus 1475.
Chrysophansäure 1283. 1360. — Harnfarbe 1225. — Verhalten im Organismus 1475.
Chylurie 205. — tropische 1566.
Cinchonin, Verhalten im Organismus 1490.
Clark, Bestimmung des Neutralschwefels nach 109.
Coccobacillus aerogenes vesicae 30.
Cochenilletinktur, Verhalten gegen Phosphate 125. 138.
Codein, Vorkommen im Harn 1494.
Coniferin, als Muttersubstanz der Hippursäure 818.
Cooper-Lane, Nachweis des Inosits n. 476.
Copaivaoel, Einfluss auf den Harn 1473.
Cortex frangulae, Verhalten im Organismus 1475.
Crangonin 721.
Crotonsäure-α, aus β-Oxybuttersäure 274. 277.
Cyanamid, Beziehung zum Harnstoff 539.
Cyanursäure, Entstehung aus Harnstoff 555.
Cyklose vgl. Inosit 473.
Cylinder, in Sedimenten 1584. 1586.
Cylinderepithelien 1581.
Cylindroide 1584.
Cystein 622. 625. 756. 759.
Cystin, Vorkommen im Harn 29. 111. 585. 599. **615**. 683. — in Sedimenten 1560. — in Konkrementen 1600. 1602. 1603. — Eigenschaften 618. — Fällung mit Benzoylchlorid 325. Physiologisches Verhalten 104. 624. — Nachweis 625. — Bestimmung 627. — als Benzoylcystin 627. — nach dem Gehalt des Harns an neutralem Schwefel 628. — als Cystin 628. — Steincystin 629. — Übergang in Taurin 104.
Cystinabkömmlinge im Harn 101.
Cystinurie 606. 616. 683.
Cytidin 1082q.
Cytosin 1082 k. 1082 p. 1264.

Dakin, Hippursäurebestimmung 826.
Damaskin, Bestimmung des Eisens nach 180.
Deen van, Guajakprobe 1226.
Denigès, Bestimmung des Eiweiss 1149. — der Purinbasen 986.
— -Oppenheimer, Nachweis des Acetons nach 251. 263.
Densimetrische Bestimmung des Gesamteiweiss 1133.
Desamidase 1082h.
Desamidoalbumin 1090.
Deuteroalbumose 1113. 1193.
Devoto, Bestimmung des Gesamteiweiss 1130. — Nachweis d. Albumosen 1213.
Dextrin, Reaktionen 438.
Dextrine, Fällung mit Benzoylchlorid 325. 466 (vgl. auch Harndextrin).
Dextrose, Vorkommen 376. — Eigenschaften 381. 438. — Fällung mit Benzoylchlorid 325. 329. — Verbindungen der Dextrose 383. — Darstellung 385. — Nachweis, Wahl der

Digitized by Google

Methode 386. — Modifikationen der Dextrose 381. — Quantitative Bestimmung 388. — Titrimetrische Kupfermethoden 388. — nach Fehling 388. — nach Soxhlet 396. — nach Lehmann 397. — nach Pavy-Kumagava-Suto 399. — nach Moritz 403. — nach Peska 404. — nach Gaud 404. — nach Bang 404. — nach Bertrand 406. — Gravimetrische Kupfermethoden 409. — Methode von Pflüger-Allihn 409. — Quecksilbermethoden 414. — nach Knapp 414. — nach Sachsse 415. — Gasometrische Methoden 416. — Bestimmung durch Polarisation 418. — durch Gärung 421. — Andere Vorschläge zur Bestimmung der Dextrose 425.
Diabetes mellitus 379.
Diacetsäure 265.
Diaceturie 265.
Diäthylbarbitursäure 1466.
Diäthylendiamin 1464.
Diäthylmalonylharnstoff 1466.
Diäthylmethylsulfiniumbase 115.
Diäthylmethylsulfiniumhydroxyd 759. **763.**
Diäthylsulfondimethylmethan 1463.
Dialursäure 1029.
Dialysable Substanzen 728. 1100.
Dialyse des Harns, zur Feststellung der kolloidalen Bestandteile 18. — Anwendung zur Isolierung von Ptomainen 730.
Diamine 683 ff. s. Putrescin 685. — Cadaverin 688. — Basen bekannter Konstitution 694. — unbekannter Konstitution 707. — des Phosphorharns 718. — Ptomaine 722. — Fällung durch Phosphorwolframsäure 491. 876. — Fällung mit Benzoylchlorid 325. — Physiologisches Verhalten 616.
Diaminofettsäuren 876.
Diaminosäuren, Vorkommen im Harn 503. — Verhalten gegen Phosphorwolframsäuren 491.
Diaminurie 685.
Diastase. Vorkommen im Harn 1522. 1533. — Nachweis u. Bestimmung 1535.
Diazoreaktion, Auftreten 1252. — bei Krankheiten 1253. 1303. 1304. — Wesen 1254. — Herstellung des Reagens 1255. 1358. — Anstellung 1254. — Ehrlichs Vorschrift 1254. — Ersatzproben 1256. — Probe mit Eiweiss 1095. — mit Gallenfarbstoffen 1349. — mit Bilirubin 1358. — in Urobilinogen 1407. 1410. — nach Ehrlich, Beziehung zur Abscheidung von neutralem Schwefel 103.
Dicalciumphosphat in Sedimenten 1552.
Dichte des Harns 4. — Bestimmung 4. — mit dem Urometer 4. — mit der hydrostatischen Wage 6. — mit dem Pyknometer 8.
Dichlorthymolglykuronsäure 1512.
Dihydroharnsäure 1069.
Dimethyläthylcarbinolglykuronsäure 1505.
Dimethylaminoantipyrin, Verhalten im Organismus 1482.
p-Dimethylaminobenzaldehyd, als Eiweissreagens 1095.
Dimethylamidobenzoeglykuronsäure 1506. 1516.
1-7-Dimethy.-2-6-dioxypurin 975.
Dimethylguanidin 700. 701. 727.
1-7-Dimethylxanthin 908. 1-3 Dimethylxanthin 908. 3-7-Dimethylxanthin 908.
Dinatriumphosphat. Einfluss auf die Reaktion des Harns 23.
Diose 284.
Dioxydichinon, Entstehung aus Inosit 475.
Dioxymethylanthrachinone, Verhalten im Organismus 1475.
Dioxynaphtalin 1472.
2-6-Dioxypurin 965.
Diplokokken im Harn 1594.
Disaccharide 284. 287. — Reduktionsvermögen 287. — Farbenreaktionen 287.
Distearyllecithin 210.
Distoma haematobium, Vorkommen im Harn 1599.
Dombrowski, Base $C_7H_{13}NO_2$ 709. — Bestimmung des Urochroms nach 1293. — Uromelanin von 1307.
Dragendorff u. Kaufmann, Bestimmung des Morphium 1492.
Drehung, optische des Harns 3. — spezifische 46.
Drehungskonstante 46.
Drehungswinkel, Bestimmung des 45 f.
Druck, osmotischer 10.
Drüsen, Elemente der in Sedimenten 1580.
Dutto, Bestimmung der Harnalbumosen 1217.
Dysalbumose 1193.
Dyslysin 1273.

Digitized by Google

Echinokokken 1599.
Echtgelb, als Vergleichsfarbe für Urochrom 1305.
Edestinverfahren zur Bestimmung d. peptischen Wirkung des Harns 1529.
Ehrliches Aldehydreagens 865.
Eieralbumin 1197. — Unterscheidung von Serumalbumin 1123.
Eigenschaften, chemische des Harns 20. — physikalische des Harns 2.
Eisen, Vorkommen im Harn 173. — Eigenschaften und Nachweis 175. — Bestimmung 175. — durch Titrieren mit Permanganat 175. — nach Hamburger 176. — nach Damaskin 180. — nach Bunge 181. — nach Jolles 182. — durch Oxydation mit Salpetersäure und Ammoniumnitrat 182. — jodometrisch 183. — durch Wägung 183. — nach Gottlieb 183. — nach Jolles 184. — nach Neumann 185. — Kolorimetrisch 188.
Eisenchlorid zur Fällung von Eiweiss 1120.
Eisenhydroxyd, kolloidales, zum Enteiweissen 1126.
Eiter, Vorkommen im Harn 1. — Guajakprobe mit 1227.
Eiterkokken 1594.
Eiweissabkömmlinge 1256. — Chondroitinschwefelsäure 1256. — Nucleinsäure 1264. — Fleischsäure 1267. — Gallensäuren 1272.
Eiweiss, Benzoylverbindungen des 325.
Eiweisskörper, Allgemeines 1083. — Einteilung 1083. — Löslichkeitsverhältnisse 1084. — Koagulation durch Hitze 1085. — durch Alkohol 1086. — Aussalzen 1086. — optische Aktivität 353. 420. 1087. — Fällungsreaktionen 1087. — Einwirkung von Anilinfarben 1088. — Farbenreaktionen 1089. — Biuretreaktion 1089. — Xanthoproteinreaktion 1090. — Millons Reaktion 1091. — Schwefelbleireaktion 1091. — Furfurolreaktion 1091. — Tryptophanreaktionen 1092. — Diazoreaktion nach Petri 1095. — Reaktion mit Chinon nach Wurster 1095. — Reaktion mit HNO_2 und Phenolen 1095. — Reaktion nach Fröhde 1096. — Reaktion nach Michailow 1096. — Reaktion nach Axenfeld 1096. — krystallisierbares 1102. — koagulierbares 1115. — Nachweis kleinster Mengen 1122. — Verwechslung mit anderen Stoffen 1121. — Vorkommen 1. 1096. — Allgemeines 1096. — der normale Eiweissgehalt 1096. — die physiologische Albuminurie 1096. — die pathologische Albuminurie 1097. — die Nubecula 1097. — Methoden zum Nachweis des normalen Eiweissgehaltes 1098. — nach Posner 1098. — nach Plosz 1098. — nach K. A. H. Mörner 1098. — nach Ott 1099. — nach Rusconi 1099. — Bestimmung des Gesamteiweisses durch Koagulation 1127. — nach Scherer-Huppert 1127. — nach Devoto 1130. — nach Jolles 1130. — nach Bellocq 1131. — andere Fällungsmethoden 1131. — Indirekte Methoden 1132. — densimetrisch 1133. — aus der Abnahme des N 1134. — Refraktometrisch 1135. — optisch 1135. — nach Roberts-Stolnikoff 1137. — nach Brandberg 1138. — nach Mittelbach 1140. — nach O. Mayer 1142. — Absatzmethoden 1142. — n. Esbach 1142. — Modifikationen 1145. — Schnellmethode von Aufrecht 1146. — nach Tsuchiya 1146. — andere Absatzmethoden 1147. — polarimetrische Bestimmung 1148. — massanalytisch 1148. — n. Tanret 1149. — spektrophotometrisch 1149. — nach Jolles mit Permanganat 1149. — nach Denigès 1149. — verschiedene des Harns. — Albumine 1101. — Globuline 1153. — mit Essigsäure fällbare Eiweissstoffe 1163. — Albumosen 1191. — Hämoglobin 1217. — Methämoglobin 1233. — typisches Harnmucoid 1165. — mucinähnliche Substanzen 1170. — Mörners Eiweiss 1173. — Phosphorproteide 1179. — Eiereiweiss 1197. — getrennte Bestimmung von Albumin u. Globulin 1150.
Eiweissquotient 1155.
Eiweissreagentien, Empfindlichkeit 1121. — in trockener Form 1122.
Eiweisszerfall, Beziehung zur Urochromausscheidung 1289. — Zerfallsprodukte 479. 539. 554. 585. — Darmfäulnisprodukte 89.
van Ekenstein u. Blanksma, Bestimmung des Acetons nach 262.
Eliacheff, Nachweis von Ptomainen 730. 1173.
Ellinger-Hensel, Phenolbestimmung 788.
Ellram, Nachweis des Acetons nach 249.

Embden, Bestimmung der Acetessigsäure nach 273. — des Acetons nach 259. — der β-Oxybuttersäure nach 282.
— u. Reese, Nachweis des Glykokolls nach 593.
Emodine, Verhalten im Organismus 1475.
Emulsin, Hydrolyse des Milchzuckers durch 458. — zur Spaltung gepaarter Glykuronsäuren 1505.
Energiegehalt des Harns 28.
Engeland, Nachweis des Histidins nach 633. — Darstellung des Methylguanidins 699. — des Dimethylguanidins 701. — der protaminähnlichen Verbindung 718.
Enteiweissung des Harns 1124. 1199. — mit kolloidalem Eisenhydroxyd 1126.
Entfärben des Harns 1349.
Enzyme im Harn 1522. — Pepsin 1523. — Trypsin u. Antitrypsin 1530. — Diastase 1533. — Labferment 1537. — Lipase 1537. — proteolytische Zellfermente 1538.
Epiguanin, Vorkommen 908. 959. 965. — Synthese, Eigenschaften, Nachweis 960. — Darstellung 989 ff. 995.
Epithelzellen in Sedimenten 19. 1580. 1584.
Epithelcylinder 1588.
Episarkin 965.
Erdalkalien, Einfluss auf die Bildung von Sedimenten 1549.
Erythrocyten, Vorkommen in Sedimenten 1577. 1584.
Erythrodextrin vgl. Glykogen.
Esbachs Reagens 1116. **1142**. 1166. 1176.
Essigsäure, Vorkommen im Harn 195. 197. — Eigenschaften, Nachweis u. Bestimmung 200.
Euxanthinsäure 1513. 1517.
Euxanthonglykuronsäure 1513.
Extinktionskoeffizient 58 (vgl. Spektrophotometrie).

Fadenpilze 30. 1591.
Falck, Chloridbestimmung nach 76.
Fällungsreaktion der Eiweissstoffe 1087.
Farbe des Harns 2.
Farbstoffe, unbekannter Abstammung, Uroerythrin 892. — Urohämatin v. Harley 899. — Giacosas Farbstoff 899. — Harnsäurefarbstoff v. Kunkel 900. — Leubes Farbstoff 900. — Farbstoff Thormählen 901. — von Schölberg 901. — Nephrorosein 902. — Farbstoffe bei Gegenwart von Formaldehyd 902. — Beziehungen zum Uratsediment 1544. — Fällung durch Phosphorwolframsäure 876. — mit Indolkern 878. — Indigoblau 878. — Indigorot 881. — Urorosein 886. — Skatolrot 891. — Urochrom 1286. — Melanin u. Melanogen 1313. Hämatin 1317. — Hämatoporphyrin 1319. — Urorubrohämatin 1344. — Urofuscohämatin 1344. — Gallenfarbstoffe 1345. — Urobilin u. Urobilinogen 1370. — Verhalten d. Phosphate gegen 123. — des Harns, Unterscheidung durch Spektrophotometrie 61. — fremde im Harn 2.
Farup, Bestimmung von Hg 1425.
Faulbaumrinde, Verhalten im Organismus 1475.
Fehling, Bestimmung des Zuckers nach 388. — Nachweis des Zuckers nach 300. 308.
Fehlingsche Lösung 289. 300.
Fenton, Nachweis des Harnstoffs nach 545.
Fermente, giftige im Harn 728. — der Purinkörper 926. — Vorkommen im Harn 1522.
Ferrocyanwasserstoff als Eiweissreagens 1088. 1112. 1121. 1167. 1177. — als Albumosenreagens 1198.
Fett, Vorkommen im Harn 204. — in Sedimenten 1566. — Eigenschaften 205. — Nachweis 206.
Fette, als Muttersubstanzen der Acetonkörper 238.
Fettsäuren, Bildung flüchtiger durch Harngärung 28. — Bildung aus Huminkörpern 1312. — feste im Harn 205. 206. — flüchtige, Vorkommen im Harn **195**. 519. Vorkommen in Sedimenten 1566. — in Harnsteinen 1604. — Eigenschaften 198. 536. — Nachweis u. Trennung 202. — als Muttersubstanzen der Acetonkörper 238. — höhere im Harn 198.
Fetttröpfchencylinder 1588.
Feuchte Veraschung des Harns 67.
Feuerbeständige Salze des Harns 66.
Fibrin 1097. — Vorkommen 1162. — Eigenschaften 1163. 1197. — Abbau durch Harnpepsin 1525 u. Trypsin 1532. — zur Bestimmung der pep-

Digitized by Google

tischen Wirkung des Harns 1526. — in Sedimenten 1580.
Fibrinogen 1097. 1161. — Unterscheidung von Globulin 1160.
Fibrinoplastische Substanz 1154.
Fibrinurie 1162.
Fieber, Kochsalzretention bei 73.
Filaria sanguinis 1598. — als Ursache der Chylurie 205.
Filippi de, Nachweis des Trimethylamins 714.
Fischer, E., Konstitution und Synthese der Purinstoffe 904 ff. — Phenylhydrazinprobe nach 339.
— u. Bergell, Bestimmung der Aminosäuren nach 641.
— u. Jennings, Nachweis der Fruktose nach 437.
Fleischfresser, Harn der 31. 115. 116. 145. 502. 817.
Fleischmilchsäure 222. 226.
Fleischsäure, Vorkommen 1267. — Eigenschaften 1268. — Darstellung u. Nachweis 1270.
Fletcher u. Hopkins, Farbenreaktionen der Milchsäure nach 226.
Fluoreszenz des Harns 3.
Fluorwasserstoff, Vorkommen im Harn 69. 86.
Folia Sennae, Verhalten im Organismus 1475.
Folin, Bestimmung der Acetessigsäure nach 273. —Bestimmung d. Ammoniaks im Harn nach 533. — Entfernung des Ammoniaks aus dem Harn nach 538. — Bestimmung der Gesamtschwefelsäure nach 95. — gepaarten Schwefelsäure nach 98. — Bestimmung des Harnstoffs nach 568. — Bestimmung des Kreatinins nach 679. 681. — Bestimmung des Neutralschwefels nach 109.
— u. Flanders, Bestimmung d. Hippursäure 836.
Formaldehyd, zur Fällung von Eiweiss 1120. — von Albumosen 1199. — Farbstoffe bei Gegenwart von Formaldehyd 902. — Wirkung auf Harnsäure 1035.
Freund, Bestimmung des zweifach und des einfach sauren Phosphats nebeneinander nach 141. — Bestimmung der Sulfatschwefelsäure nach 99.
— u. Fellner, Bestimmung des Harnstoffs nach 562. — des gesamten Stickstoffs nach 495.
Friedländerscher Kapselbacillus 1594. 1597.
Fritsch, Bestimmung des Kohlenstoffs im Harn nach 513.
Fröhde, Eiweissreaktion 1096.
Fröhner, Nachweis des Acetons nach 249. 251.
Frommer, Nachweis des Acetons nach 250. 251.
Frosch, Harn des 518.
Fruchtfarbstoffe, Einfluss auf die Farbe des Harns 2.
Fruchtzucker vgl. Fruktose-d.
Fruktose-d, Vorkommen 429. — Eigenschaften 433. 464. — Verbindungen der 435. — Unterscheidung von anderen Zuckern 438. — Nachweis 441. — Bestimmung 444.
Fruktosurie 429. — alimentäre 432.
v. Fürth, Bestimmung der Milchsäure nach 233.
Fuld, Edestinprobe 1529.
Furfurolreaktionen der Kohlehydrate 320. — des Eiweisses 1088. 1112. 1121. 1167.

Gärprobe in Harn 347.
Gärung, alkalische des Harns 28. 196. 518. 682. 819. 1347. — Wirkung auf Urobilin 1386. — saure des Harns 29. 114. 148. — unter Bildung von Fettsäuren 196 f. — unter Gasbildung 29. — unter Reduktion von Nitraten 148. — schleimige 1592. — alkoholische im Harn 345. — Wesen der Gärung 345. — Ausführung der Gärprobe im Harn 347. — Bewertung der Gärprobe im Harn 350.
Gärungsbuttersäure vgl. Buttersäure, normale.
Gärungshemmende Körper 31.
Gärungsmilchsäure 222.
Gärungssaccharometer nach Lohnstein 423.
Gärvermögen des Zuckers 285.
Galaktonsäure-d 446.
Galaktose-d, Vorkommen im Harn 444. — Eigenschaften 438. 444. 458. — Gärfähigkeit 345. 447. — Oxydationsprodukte der Galaktose 446. — Nachweis 448. — als Galaktosazon 448.
Galaktosephenylhydrazon 338.
Galaktosephenylosazon 338.

Digitized by Google

Galakturie 205.
Gallenbestandteile, Vorkommen im allgemeinen 1. — Einfluss auf die Farbe des Harns 2.
Gallenfarbstoffe, Vorkommen 1283.1345. — Eigenschaften des Bilirubin 1346. — des Biliverdin 1350. — des Biliprasin 1351. — des Bilifuscin 1351. — des Cholecyanin 1352. — d. Choletelin 1353. — des reduzierbaren Stoffes von Stokvis 1354. — Nachweis im Harn direkt nach Gmelin 1355. — Modifikationen 1356. — mit Jodtinktur 1357. — Cholecyaninprobe n. Stokvis 1357. — mit Diazobenzolsulfosäure 1358. — nach Stokvis 1358. — mit Formalin 1359. — durch Oberflächenspannung und Viskosität 1359. — Nachweis durch Isolierung, durch Fällung nach Salkowski 1360. — nach Hammarsten 1361. — nach Nakayama 1363. — nach Steensma u. Schippers 1364. — durch Extraktion m. Chloroform 1365. — Nachweis in Sedimenten 1366. 1571. — Nachweis der einzelnen Gallenfarbstoffe 1366. — Spektra 1371. 1383.
Gallenfarbstoff, Reduktionsvermögen 302.
Gallenfarbstoffe in Harnsteinen 207.
Gallensalze, Beeinflussung der Oberflächenspannung durch 17.
Gallensäuren, Vorkommen 1098. 1272. — Eigenschaften 1273. — Pettenkofersche Probe 1275. — im Harn direkt 1278. — nach Isolierung 1279. — gepaarte 1273.
Gallerte, im Harn hungernder Kaninchen 1162. — bei Nephritis 1162.
Gallisin 464.
Gallussäure, Vorkommen 849. — Bestimmung 862.
Garnier, Bestimmung des Kaliums u. Natriums nach 161.
Garrat, Bestimmung des Kaliums u. Natriums nach 161.
Garrod, Darstellung von Homogentisinsäure 859. — Urochrom 1299. — Hämatoporphyrin 1335. — Uroerythrin 897.
— u. Hopkins, Urobilin 1390.
Gase des Harns, Vorkommen im allgemeinen 1. **189**.
Gasis, Spermatozoenfärbung 1583.
Gaskell, Bestimmung des Cystins nach 628.
Gaud, Bestimmung des Zuckers nach 404.
Gawinski, Bestimmung der Oxyproteinsäuren 1250.
Gay-Lussac, Chloridbestimmung nach 83.
Gefrierpunkt des Harns 12.
Gefrierpunktserniedrigung, Bestimmung der 13.
Gerhardt, Nachweis der Acetessigsäure nach 268.
Geruch des Harns 3.
Geschwulstpartikel in Sedimenten 1582.
Gewebselemente, geformte, Vorkommen im allgemeinen 1.
Giacosas Farbstoff 899.
Gicht 1007. 1549. — der Vögel 1002.
Giftige Bestandteile 1. 722. 723. 725. — kolloidale 729. — alkaloidartige 734. — in pathologischen Harnen 729 f.
Ginsberg, Bestimmung der Oxyproteinsäuren 1250.
Glaessner, Bestimmung des Aminosäurenstickstoffs nach 642.
Gliskrin 30.
Gliskrobakterium 30.
Globuline 1084. 1085. 1097. 1106. 1218. 1221. — Allgemeines 1153. — Serumglobulin 1154. — Fibrinogen 1161. Fibrin 1162. — Unterscheidung von Fibrinogen 1160. — zur Fällung von Albumosen 1199.
Globulinurie 1155.
Glucinsäure, Entstehung aus Zucker 294.
Glucosamin 453. 466.
Glucose-d vgl. Dextrose.
Glucuronsäure vgl. Glykuronsäure.
Glycerin, Vorkommen im Harn 191. — Eigenschaften 192. — Nachweis u. Bestimmung 192. — Einfluss auf die Purinausscheidung 914. 1005.
Glycerinphosphorsäure **193**. 210. — Quantitative Bestimmung 194. — Eigenschaften u. Nachweis 194. — Verhalten im Organismus 116.
Glycin vgl. Glykokoll.
Glykocholsäure 1274.
Glykocholeinsäure 1275.
Glykogen, Vorkommen 471. — Eigenschaften 472. — Reaktionen 438. 467. — Fällung durch Phosphorwolframsäure 876. — Nachweis 473. — optisches Verhalten 353.
Glykoheptose, Reaktionen 438.
Glykokoll, Vorkommen 585. **587**. — Eigenschaften 588. — physiologi-

Digitized by Google

sches Verhalten 592. — Nachweis 592. — als Oxalsäurebildner 212. — Einfluss des auf die Reaktion 23. — — aus Hippursäure 815.
Glykolsäure als Oxalsäurebildner 212.
Glykose-d vgl. Dextrose.
Glykosephenylhydrazon 335.
Glykosephenylosazon 335.
Glykoside 286.
Glykosurie, alimentäre 377.
Glykosursäure 851.
Glykuronsäure, aus Carniferrin 1269. — Beziehung zu Huminkörpern 1284. — gepaarte 1462—1483. 1505—1521. — Vorkommen 1, 284. 356. 360. 364. 420. 1497. — Eigenschaften 1498. — Gärfähigkeit 1501. — Farbenreaktionen 1502. — Benzoylverbindungen 325. — optisches Verhalten 353. — Bedeutung für die Phenylhydrazinprobe 343. — Reduktionsvermögen 287. 302. 318. 464. — gepaarte 1462—1483. — Allgemeines 1505. — Vorkommen 1510. — Die einzelnen gepaarten Glykuronsäuren s. unter ihrem Namen.
Glykuronsäureverbindungen d. Phenole 764.
Glyoxylsäure, Reaktion v. Hopkins 865. — als Eiweissreagens 1093. — als Oxalsäurebildner 212.
Gmelinsche Gallenfarbstoffprobe 1348. 1355. — Modifikationen 1356.
Goldmann u. Baumann, Nachweis des Cystins nach 620.
Goldschmidt, Farbenreaktion der Glykuronsäure 1504. — Nachweis des Harnstoffs nach 545.
Gonokokken, Nachweis 1590. 1594. 1596.
Gottlieb, Bestimmung des Eisens nach 183. — Darstellung des Harnstoffs aus Harn nach 557.
Griffiths, Alkaloide aus patholog. Harn 736.
Grutterink u. Graaff, Eiweisskrystalle 1188.
Guajakonsäure, Reaktion mit Hämoglobin 1227.
Guajakol 1469.
Guajakolglykuronsäure 1469.
Guajakolschwefelsäure 1469.
Guajakprobe, zum Nachweis von Hämoglobin 1223. 1226. — mit Eiter 1227. — mit Galle und Gallenharn 1228.
Guanase 926.
Guanidin 539.
Guanin 554. 908. 918. 1264. — Vorkommen 954. 1082 e, k, p, s. — Synthesen 955. — Eigenschaften 955. — Darstellung 959. 989 ff. 995.
Guanosin 1082 f, q, r, s. — desamidase 1082 h.
Guanylsäure 1082 e, q. s. auch unter Nucleinsäuren.
Guareschi, Reaktion auf Phenole 768.
Gummi, tierisches, vgl. Harndextrin 325. 466. —Fällung mit Benzoylchlorid 325. 330. — Beziehung zu Huminkörpern 1284.
Gunning, Nachweis des Acetons nach 246. 251.
Gurjunbalsam, Einfluss auf den Harn 1474.
Gutscheid-Burnaschew 1438.
Gyncsin 716.

Hämatin 1084. 1221. 1227. 1283. — Vorkommen 1317. — Nachweis 1318. — eisenfreies 1319. — reduziertes 1318.
Hämatinsäure 1323. 1349.
Hämatoidin 1322. 1346.
Hämatoporphyrin 1214. 1222. 1225. 1283. 1371. 1375. 1395. — Vorkommen 1319. — Eigenschaften 1322. — Spektrum 2. 1284. 1327. — Nachweis 1334. — Darstellung 1342. — Bestimmung 1343.
Hämaturie 1217.
Hämin 1221. 1227. 1318.
Hämochromogen 1222. 1318. 1334. — eisenfreies 1326.
Hämoglobin, Vorkommen 2. 1084. 1085. 1097. 1217. 1283. — Eigenschaften 1218. — Spektrum 1219. — Nachweis 1221. — spektroskopisch 1222. — als Hämochromogen 1223. — durch Extraktion 1223. — durch Tanninfällung 1225. — mit essigsaurem Zn 1226. — mit wolframs. Na 1226. — Guajakproben 1226. Aloinproben 1229. — Benzidinproben 1229. — Malachitgrünprobe 1231. — Paraphenylendiaminchlorhydratprobe 1231. — Rieglers Hydrazinreagens 1232. — Phenolphtaleinprobe 1232.
Hämoglobinurie 1217. — paroxysmale 1218. — epidemische 1218.
Hämopyrrol 1295. 1349. 1408.
Haftdruck 18.
Hai, Harn des 103.
Halbschattenapparat 33 (vgl. Polarimeter). — nach Laurent 34. 38. —

Digitized by Google

nach Lippich 34. 38. — nach Cornu 34.
Hamburger, Bestimmung des Eisens nach 176.
Hammarsten, Bestimmung des Albumins u. Globulins 1150. — Reaktion auf Cholalsäure 1274. — auf Gallenfarbstoff 1361.
Hammel, Harn des 103. 838.
Hári, N-haltige Säure 1246.
Harley, Urohämatin 899.
Harnalbumosen s. Albumosen 1201 ff.
Harnack, Bestimmung von JH 1447.
Harnagglutinin 728. 1609.
Harndextrin 466. — Vorkommen 467. — Eigenschaften 467. — Darstellung 470. — Nachweis 471.
Harnfarbstoffe s. Farbstoffe.
Harnfarbstoff, Unterscheidung durch Spektrophotometrie 61.
Harngärung s. Gärung.
Harngries 1600.
Harnharz, schwarzes 1286.
Harnkonkremente 1600.
Harnmucoid 1097. — typisches 1165. — Eigenschaften 1165. — Darstellung 1168. — Nachweis 1169.
Harnpepton 1113. 1117. 1119.
Harnsand 1600.
Harnsäure 876. 908. 920. 925. — Vorkommen 1. 496. 501. 502. 503. 1001. 1082 c. — Synthesen 1001. — Physiolog. Verhalten 1001. — Eigenschaften 554. 1010. — Physikalisch-chemische Konstanten 1012. — Verbindungen mit Basen 1014. — mit Säuren 1023. — Zersetzungen 1025. — durch Mikroorganismen 1031. — Verhalten im Harn 1032. — Darstellung 1037. — Nachweis 1041. — Bestimmung 1043—1065. — Bestimmung der reinen Harnsäure 1043. — acidimetrisch 1043. — mit Permanganat 1044. — als Ag-Mg-Salz 1046. — durch N-bestimmung 1046. — durch Ag-Bestimmung 1046. — im Harn nach Ludwig-Salkowski 1051. nach Wiechowski 1057. — nach Krüger-Schmidt 1059. — nach Hopkins 1060. — nach Folin u. Shaffer 1062. — nach Guérin 1063. — nach Wörner 1063. — nach Dimmrock u. Branson 1063. — als Ba-Salz 1064. — als Zn-Salz 1064. — durch Titrieren mit Ag-Lösung 1064. — durch Reduktion von Jodsäure 1065. — von Silbersalz 1065. — bei Vögeln u. Schlangen 32. — Reduktionsvermögen der 287. 302. — Beziehung zur Oxalsäure 212.
Harnsäureausscheidung, endogene 1036.
Harnsäurekonkremente 1600.
Harnsäurecylinder 1585.
Harnsäurefarbstoff von Kunkel 900.
Harnsäurekrystalle 1546.
Harnsäureoxydase 928.
Harnsäuresedimente 1542.
Harnsaures Ammoniak, Fällung zugleich mit Globulin 1159. — in alkalischem Harn 1547.
Harnsaure Diathese 1036. 1549.
Harnsedimente 1540 (s. Sedimente).
Harnspektrum 1284.
Harnsteine 115. 207. — Indigo in 878. — Indigrot in 882. — Gehalt an Xanthin 965.
Harnstickstoff vgl. Stickstoff.
Harnstoff, Vorkommen u. Bildung 1. 503. 518. 538. 613. 906. — Vorkommen in Harnsteinen 207. 491. 496. 524. 639. — Eigenschaften 540. — Verbindungen des 541. — mit Säuren 541. — mit Salzen u. Metalloxyden 543. — Aldehyden 544. — mit Aminogruppen 546. — mit Alkoholen 548. — Zersetzungen des 548. — durch Bakterien 550. — durch Oxydation des 551. — durch Hypohalogenite 552. — durch Schmelzen 555. — Zerstörung in der Analyse 159. — Verhalten zu Eiweisskörpern 556. 1087. — Beziehung zur Lösungsfähigkeit der Harnsäure 1036. — Darstellung 556. — Nachweis 558. — Bestimmung 560. — oxalsaurer Harnstoff 560. — mit Mercurinitrat 561. — mit Sublimat u. Soda 562. — nach Knop-Hüfner 563. — durch Bestimmung des bei der Hydrolyse frei werdenden Ammoniaks 564. — — durch Hydrolyse des nativen Harns 564. — nach Cazeneuve u. Hugounenq 564. — nach Miquel 565. — nach Schmied-Kossel 566. — — nach Bunsen-Salkowski-Pflüger 566. — nach Salaskin u. Zaleski 567. — nach Folin 568. — durch Hydrolyse des gereinigten Harns 571. — nach Mörner-Sjöquist 571. — nach Pflüger-Bleibtreu-Schöndorff 574. — nach Haskins 576.
Harnstoffstickstoff 495.
Harnwinde, schwarze der Pferde 1218.

Digitized by Google

Hart, Nachweis der β-Oxybuttersäure nach 281.
Harzsäuren 1117. 1474.
Haskins, Bestimmung des Harnstoffes nach 576.
Haussäugetiere, Harnaschen der 71.
Haycraft u. Herrmann, Bestimmung der Purinbasen 985.
Haysche Reaktion 17.
Hefen zur Zuckergärung 345. 458.
Hefenucleinsäure 1082 p.
Heidelbeeren, Einfluss auf Harnfarbe 1283.
Heintz, Bestimmung des Ammoniaks im Harn nach 534.
Hellersche Blutprobe 1224.
— Probe auf Eiweiss 1096. 1099. 1110. 1121. 1166. 1177. — Bestimmung des Eiweiss mit 1152. — Nachweis des Chondroalbumin mit 1259. — mit Deuteroalbumosen 1198.
Hemibilirubin 1372. 1405. 1407.
Hempel, Bestimmung des Neutralschwefels nach 109. — Bestimmung des Calciums nach 169.
Henriques u. Sörensen, Entfernung des Ammoniaks aus dem Harn nach 538.
Heptose 284.
Herzog, Nachweis der Milchsäure nach 230.
Heteroalbumose 1084. 1156. 1160. 1193. — in Sedimenten 1564.
Heterocyklische Säuren 862.
Heteroxanthin 908. — Vorkommen u. Synthese 972. — Eigenschaften 973. — Nachweis u. Darstellung 974. 991 ff. 995.
Hexahydrohexoxybenzol vgl. Inosit.
Hexamethylentetramin 1465.
Hexose 284. 345. 376.
Hexose als Spaltungsprodukt der Nucleinsäuren 1082 k.
Hilfsapparate zur Polarisation 42. — Spektrophotometrie 55.
Hilger, Bestimmung von JH 1446.
Hippursäure, Eigenschaften 496. 554. 588. 641. 818. — Vorkommen 1. 31. 502. 585. 815. 817. — in Sedimenten 1560. 1600. — Einfluss auf die Reaktion 23. — Darstellung 821. — Bestimmung 646. 825. — Lösungskoeffizient 832.
Histidin, Vorkommen 585. **630.** — Eigenschaften 630. — Biuretreaktion 1090. — Physiologisches Verhalten 633. — Nachweis u. Isolierung 633.
Histon 1183.
Histonähnlicher Körper von Krehl u. Matthes 1215.
Histozym, Hippursäure spaltendes 820.
Hoffmann P., Bestimmung des Eisens nach 182.
Hoffmann, R., Nachweis des Tyrosins nach 610.
Hofmeister, Darstellung von Harnstoff aus Harn nach 556. — Nachweis der Lactose nach 461. — Kynurensäuredarstellung 873. — Enteiweissung d. Harns 1199. — Nachweis von Albumosen 1209. 1210. 1213.
Hohlwegs Urochrom 1294.
Homogentisinsäure, Vorkommen 851. — Eigenschaften 854. — Darstellung 858. — Bestimmung 861.
Hopkins, Nachweis der Milchsäure nach 226. 230.
Hopkinssche Glyoxylsäurereaktion 865.
Hoppe-Seyler, Gewichtsanalytische Bestimmung des Urobilin 1402. — Darstellung von Harnstoff aus Harn nach 557. — Indigprobe zum Nachweis von Zucker 319.
Hüfner, Azotometrische Bestimmung d. Harnstoffes nach 553. 563.
Hulett u. Bonner, Herstellung von Normal-Salzsäure 1614.
Huminsubstanzen, als Harnfarbstoffe 1283. — Vorkommen 1306. 1307. 1309. — Beziehung zum Furfurolgehalt des Amylalkohols 1310 — braune Stoffe bei der Rosenbachschen Probe 1310.
Hund, Harn des 31. 70. 71. 78. 79. 87. 88. 111. 113. 114. 115. 174. 197. 198, 204. 213. 237. 344. 378. 473. 500. 502 518. 577. 652. 747. 799. 842. 868. 1118. 1346. — Diazoreaktion 1253. — gepaarte Glykuronsäuren 1506. — Pepsin 1523.
Hungerdiabetes 378.
Huppert, Bestimmung des Acetons nach 254. — des Eiweiss 1127.
Hydantoinsäure 621. 1072.
Hydrazinreagens auf Blutfarbstoff 1232.
Hydrazinverbindungen der Kohlehydrate 332. Vgl. Kohlehydrate.
Hydrazone der Kohlehydrate 332.
Hydrobilirubin aus Bilirubin 1350. 1353. 1371.
Hydrochinon, Reduktionsvermögen 302. — Hydrochinon 796. — Oxydationsprodukte im Carbolharn 1311.

Digitized by Google

Hydrochinonessigsäure s. Homogentisinsäure.
Hydrochinonmilchsäure 851.
Hymatomelansäure 1284.
Hyperchlorurie 73.
Hypoxanthin. 904 ff. 908. 918. 920. 1264 — Vorkommen 961. — Eigenschaften 962. — Darstellung 964. 989 ff. — Nachweis 965. — Bildung 1082 h, r, s, t. —
Hypoxanthinfraktion, Verarbeitung der 994.

Jaarsveld u. Stokvis. Bestimmung der Hippursäure 828.
Jacquennin, Reaktion auf Phenole 771. 780.
Jäncke, Bestimmung von Hg 1422.
Jaffé, Nachweis des Indoxyl 805. — des Kreatinins nach 666.
v. Jaksch, Phenylhydrazinprobe nach 339. — Nachweis von Albumosen 1209.
Jerusalem, Bestimmung der Milchsäure nach 235.
Ignatowski, Bestimmung der Aminosäuren nach 641.
Imabuchi, Bestimmung d. Indoxyl 810.
Imidazolacrylsäure 1081.
Inada, Nachweis der Salpetersäure nach 151.
Indigblau 797. 878. 1548. — Vorkommen 878. 1283. — Eigenschaften, Spektrum 879. — Nachweis 880. — in Sedimenten 1568. — in Konkrementen 1600.
Indigo 878.
Indigosteine 1604.
Indigotin 878.
Indigprobe nach Hoppe-Seyler 319.
Indigpurpurin 882.
Indigrot 797. 802. 881. 891. 1283. 1548. — Vorkommen 881. 1388. — Eigenschaften 882. — Spektrum 883. 1385. — Darstellung 884. — Nachweis 885. — in Sedimenten 1568.
Indikan 440. 766. 797. 1278. 1317. — Reduktionsvermögen 302. 318.
Indikanharn, Nachweis von Gallenfarbstoff im 1359.
Indikanurie, Beziehung zur Oxalsäureausscheidung 213.
Indikatoren 25. 123.
Indileucin 884.
Indirubin 881. 882.
Indirubinweiss 884.
Indogenide 801.
Indol 496. 798. — im Harndestillat 866. — Legalsche Probe 1315. — Indolgruppe, Bedeutung für die Biuretreaktion 1090.
Indolaminopropionsäure 798.
Indolessigsäure 862.
Indophenolreaktion 1480. 1481.
Indoxyl 641. 764. 797. — Eigenschaften 801. — Darstellung 804. — Nachweis 805. — Bestimmung 807.
Indoxylglykuronsäure 803. 878. 881. 1283. 1511.
Indoxylschwefelsäure 803. 881. 1283.
Indoxylurie 779. 798.
Infektionskrankheiten, Kochsalzretention bei 73.
Inosin 929. 1082 f, h, t.
Inosinhydrolase 1082 h.
Inosinsäure 1082 e.
Inosit, Vorkommen 473. — Eigenschaften 474. — Nachweis 476.
Invertzucker 462.
Jodcholsäure 1274.
Jodhaltiger Harn 1119.
Jodkaliumquecksilbercyanid 1120.
Jodoform 1461.
Jodospongin 1090.
Jodquecksilberjodkalium als Eiweissreagens 1087.
Jodquecksilberkalium 1119. 1167. 1177.
Jodtinktur z. Nachweis von Gallenfarbstoff 1357.
Jodwasserstoff, Eiweissfällung 1118. 1167. 1177.
— Vorkommen 1443. — Bestimmung 1444.
Johnson, Bestimmung des Kreatinins nach 678. — Nachweis des Zuckers nach 306.
Jolles, Bestimmung des Eisens nach 182. 184. — Nachweis von Pentosen nach 370. — Bestimmung des Gesamteiweiss 1130. — des Bilirubin 1367. — von Hg 1420. — von JH 1449.
Ionisationskonstante, graphische Darstellung der 22.
Ionisierungsreaktionen in Phosphatlösungen 130.
Isatin 802.
Isoamylalkohol 604.
Isoamylamin 604.
Isobuttersäure 30. 201.
Isohämatoporphyrin 1330.
Isohydrische Lösungen 23.
Isomaltose, Vorkommen 464. — Eigen-

Digitized by Google

schaften 465. — Nachweis 466. — Fällung mit Benzoylchlorid 325. 330.
Isomaltosephenylosazon 338.
Isomaltosurie, alimentäre 465.
Isovaleriansäure 198. 201.
Ito-Rostoski, Nachweis von Pepton1216.

Kaffein 908. 920. 931. — Darstellung 1000. — Vorkommen 1495. 1496.
Kairin, Verhalten im Organismus 1506.
Kakodylsäure 1464.
Kalium, Vorkommen 1. 155. — Eigenschaften 156. — Nachweis 156. — Bestimmung 158. — des Kaliums und Natriums nebeneinander 158. nach Lehmann 158. — nach Přibram und G. Gregor 160. — nach Bunge 160. — nach Salkowski u. Munk 160. — nach G. C. Garrat 161. — nach Léon Garnier 161. — des Kaliums 162. — mit Platinchlorid 162. — volumetrische Methode 162. — mit salpetersaurem Silber 163. — mit dem Kobaltreagens nach Autenrieth u. Bernheim 164.
Kaliumsalze, Vorkommen im allgemeinen. 69. — und Harngiftigkeit 726.
Kaliumantimonat als Eiweissreagens 1088.
Kaliumchlorid im Harn 74.
Kaliumwismutjodid als Eiweissreagens 1126.
Kalk, kohlensaurer, in Sedimenten 1559. — in Konkrementen 1600. 1602.
Kaninchenharn 88. 103. 111. 148. 204. 212. 239. 501. 518. 793. 799. 815. 842. 1162. — Diazoreaktion 1253. — gepaarte Glykuronsäuren 1506.
Kaolin, zum Enteiweissen 1126.
Kapronsäure 238.
Karbol s. Carbol.
Karpfen, Harn des 32.
Kasein 1084. 1091. — Abbau durch Harntrypsin 1532.
Kationen im Harn 154.
Katz, Chininbestimmung 1487.
Katzenharn 19. 88. 111. 204. 239.
Kefir, fäulnishemmende Wirkung 90. — Gärwirkung 347. 458.
Kefirlaktase, zur Spaltung gepaarter Glykuronsäuren 1505.
Kenotoxin 732.
Keratomucoid 1165.
Kerner, Chininbestimmung 1489.
Kersting, Bestimmung von JH 1444.
Kjeldahl, Stickstoffbestimmung nach 480. — Katalysatoren 481. 483. — Kolben u. Vorlagen 483. — Prinzip der Bestimmung 480. — Ausführung 482. — Indikatoren zur Titration 487. — azotometrische Stickstoffbestimmung 488. — Bestimmung durch Formoltitration 489.
Kieselsäure im Harn 69. 147.
Kirschen und Harnfarbe 1283.
Kirschgummi, Hippursäure nach Verfütterung von 817.
Knapp, Bestimmung des Zuckers nach 414.
— u. Suter, Bestimmung des Guajakol 1471.
Knop, Azotometrische Bestimmung des Harnstoffs 552. 563.
Koagulation d. Eiweissstoffe 1085. — Koagulationstemperatur 1085. — durchAlkohol 1086. — Koagulationspunkt des Serum 1101.
Koagulierbares Eiweiss 1115.
Kochprobe, zum Eiweissnachweis 1096. 1106. 1121. — mit Essigsäurezusatz 1108. — mit Salzzusatz 1109.
Kochsalzretention 73.
Kohlehydrate des Harns, allgemeiner Teil 284. — Einteilung u. Nomenklatur 284. — Stereoisomerie 284. — Einteilung nach dem optischen Verhalten 285. — Gemeinsame Eigenschaften der Zucker 285 (Monosaccharide s. dort, Di- u. Polysaccharide s. dort, Reaktionsvermögen s. dort). — Farben-(Furfurol-)Reaktionen 320. — mit a-Naphtol 320. — mit Thymol 324. — mit Xylidin 324. — Benzoesäureester der 325. — Hydrazinverbindungen der 332. — allgemeines 332. — Anstellung der Probe im Harn 339. — Bedeutung der Probe im Harn 343. — alkoholische Gärung zum Nachweis von Zucker 345 (vgl. Gärung, alkoholische). — Nachweis des Zuckers durch Polarisation 352. — Spezieller Teil 353 (die Einteilung s. bei den einzelnen Kohlehydraten). — Bestimmung der gesamten 426.
Kohlehydrat, Entstehung aus Nucleinsäuren 1082 c, e, k, p. 1266.
— N-haltiges 1236.
Kohlensäure im Harn 1. 69. 145. 189. — Vorkommen 145. — Eigenschaften 146. — Nachweis 146. — Bestimmung 146.
Kohlenstoff im Harn, Bestimmung 503.

Digitized by Google

— auf nassem Wege 503. — durch Wägen 504. — unter Verwendung d. Kaliapparates 506. — unter Verwendung von Natronkalk 509. — durch Titrieren 509. — durch Elementaranalyse 513. — mittelst der kalorimetrischen Bombe 515. — Verhältnis von Gesamtkohlenstoff zu Gesamtstickstoff 516.
Kojo. Oxyproteinsäurebestimmung 1250. 1251.
Kokkencylinder im Harn 1598.
Kolisch, Bestimmung des Kreatinins nach 678.
Kolloidale Giftstoffe, Isolierung 729.
Kolloidaler Stickstoff 1252.
Kolloide im Harn 18. 1101. 1236. — Beziehung zur Lösungsfähigkeit für Harnsäure 1037. — zur Bildung von Uratsediment 1543.
Konkremente im Harn 1600. — Vorkommen 1600. — Bildung 1601. — Uratsteine, Phosphatsteine, Calciumcarbonatsteine 1602. — Calciumoxalsteine, Cystinsteine, Xanthinsteine 1603. — Indigosteine, Cholesterinsteine, Urostealithen 1604. — — gemischte Steine 1605. — Analyse 1605.
Konservierung von Harnsedimenten 1574.
Konzentration des Harns 2. 3. — molekulare des Harns 10. — der H-Ionen des Harns 21. — relative 60.
Kossel, Bestimmung des Harnstoffs nach 566.
Kowarsky, Phenylhydrazinprobe nach 341.
Kramm, Urochrom 1300.
Kreatin, Vorkommen 649. — Eigenschaften 653. — Darstellung 667. — — Nachweis 673. — Bestimmungsmethoden 675. — als Oxalsäurebildner 212. — Vorkommen 503. — Eigenschaften 491. 554. 641. — Konstitution 648. — als reduzierende Substanz im Harn 302.
Kreatinin, Konstitution 648. — Vorkommen 1. 503. 651. 984. 1247. — Eigenschaften 496. 554. 564. 659. — Farbenreaktionen 666. — Reduktionsvermögen 287. 301. 302. 318. — Darstellung 668. — Fällung durch Phosphorwolframsäure 876. — Nachweis 674. — Bestimmungsmethoden 675. — nach Neubauer 675. — nach Kolisch 678. — nach Johnson 678. — nach Folin 679. — Bestimmung des Gesamtkreatinins 681. — nach Folin 681. — nach Benedict u. Myers 682.
Krehl u. Matthes, histonähnlicher Körper 1215.
Kresalol, Verhalten im Organismus 1467.
Kresol, Vorkommen 613. 777. — Eigenschaften 778. — physiologisches Verhalten 780. — Nachweis 780. — Darstellung 781. — Bestimmung 784. — getrennte von Kresol u. Phenol 788.
Kresolglykuronsäure 782. 1511.
Kresolschwefelsäure 781.
Krotonsäure s. Crotonsäure.
Krüger, Bestimmung der Aminosäuren nach 641.
— Reich u. Schittenhelm, Bestimmung des Ammoniaks im Harn nach 531.
Krüger, M. u. J. Schmid, Bestimmung d. gesamten Stickstoffs nach 493.
Krystalle im Harn 19.
Krystallisiertes Eiweiss 1188. 1190.
Kryofin, Verhalten im Organimus 1481.
Kryoskopie 15.
Külz, Nachweis der β-Oxybuttersäure nach 280.
Kuhharn 70. 198. 765. 778. 799. 815. 817. 838. — Diazoreaktion 1253. — (Vgl. Pflanzenfresser).
Kunkel, Harnsäurefarbstoff 900.
Kupfer, lösende Stoffe im Harn 303.
Kupferproben zur Bestimmung des Reduktionsvermögens des Harns s. unter Reduktionsvermögen.
Kupfersalze zur Fällung von Eiweiss 1087.
Kutscher u. Lohmann, Methylguanidin 699. — Dimethylguanidin 701. — Pyridylmethylammoniumhydroxyd 714. — Gynesin 716. — Base $C_7H_{15}NO_2$ 709.
Kwilecki, modifizierte Esbachsche Probe 1145.
Kynosin 716.
Kynurensäure 31. 502. 868. — Eigenschaften 870. 894. — Darstellung 873. — Fällung durch Phosphorwolframsäure 876. — Nachweis u. Bestimmung 876. 877.
Kynurin 871.
Kynursäure 872.

Labferment, Vorkommen im Harn 1522. 1537.
Lackmus, Verhalten gegen Phosphate 123. — Herstellung des Indikators 124.

Lactase 458.
Lactophenin, Verhalten im Organismus 1480.
Lactosazon 448.
Lactose vgl. Milchzucker 453.
Lactosephenylhydrazon 339.
Lactosephenylosazon 339.
Lactosurie 453. — alimentäre 455.
Lävulinsäure 446.
Lävulose, optisches Verhalten 420. — (Vgl. Fruktose-d.)
Laiose, Vorkommen 450. — Eigenschaften 451. — Darstellung u. Nachweis 452. — optisches Verhalten 420. 430.
Landolt, Reaktion auf Phenol nach 769.
Landwehr, Nachweis des tierischen Gummis von 470.
Langstein u. Steinitz, Nachweis der Lactose nach 460.
Lapicque, Bestimmung des Eisens nach 188.
Latschenberger, Bestimmung des Ammoniaks nach 535.
Lecithin 193. 206. **210**. — als Eiweissreagens 1088. — Einfluss auf die Purinausscheidung 915.
van Leersum, Bestimmung der Aminosäuren nach 641.
Legal, Nachweis des Acetons nach 247. 251.
Lehmann, K., Bestimmung des Zuckers nach 397.
Lehmann, Th., Bestimmung des Kalium u. Natriums nach 158.
Leichenalkaloide 722.
Leim 1084. 1091. — als Oxalsäurebildner 212.
Leitfähigkeit, elektrische des Harns 16.
Lemaire, Nachweis der Lactose nach 461.
v. Lengyel, Bestimmung der Sulfatschwefelsäure nach 98.
Leo, Nachweis der Laiose nach 450. — Leoscher Zucker 450.
Lépine, Bestimmung des Neutralschwefels nach 105.
Leube, Nachweis der Glycogens nach 473. — Harnfarbstoff beobachtet von 900.
Leucin, Vorkommen 585. **598**. — in Sedimenten 1562. — Eigenschaften 599. — Physiologisches Verhalten 603. — Nachweis u. Isolierung 604. — Beziehung zur β-Oxybuttersäure 238.
Leukocyten, Gehalt an Fett 1566. — — Vorkommen in Sedimenten 1579. 1584.
Leukocytenferment 1538.
Leukomaine 722.
Levulose vgl. Fruktose-d.
Lichtabsorption des Harns 2. 48. — (Vgl. Spektrophotometrie.) — Mass der 58.
Lichtfilter 44.
Lichtquelle für das Spektrophotometer 55.
Lieben, Nachweis des Acetons nach 244. 251.
Liebermann, Tryptophanreaktion nach 1093. 1177.
v. Liebermann, Bestimmung der Phosphorsäure nach 137.
Liebig, Titration des Harnstoffs mit Mercurinitrat nach 561.
Lipämie als Ursache der Lipurie 205.
Lipase, Vorkommen im Harn 1537.
Lipoide, Vorkommen in Sedimenten 1566.
Lippich, Darstellung des Harnstoffs aus Harn nach 557.
Lipurie 204.
Lithium, Vorkommen im Harn 1440.
Lithursäure 877.
Lockemann, Nachweis des Arsens nach 1430.
Loewy u. Neuberg, Darstellung des Cadaverins nach 693.
Lohnstein, Präzisionsgärungssaccharometer nach 423. — Urometer nach 5.
Lösungswärme der Harnsubstanzen 28.
Lösungsvermögen des Harns für Kupferhydrat 303.
Lüdy, Nachweis des Harnstoffs nach 545. 559.
Ludwig, Bestimmung der Purinbasen nach 981.
— u. Zillner, Bestimmung des Quecksilbers im Harn nach 1420.
Lunge, Nachweis der Salpetersäure nach 149.
Luteinstreifen im Spektrum 1325.
Lysidin, Vorkommen im Harn 1475. — als harnsäurelösendes Mittel 1035.
Lysin, Zersetzungsprodukte des 684.
Lysine, Vorkommen im Harn 1609.1610.
Lysogene Substanzen, Vorkommen im Harn 728. 1609. 1611.
Lysolvergiftung, Einwirkung auf den Harn 1312.

Digitized by Google

Macleod u. Haskins, Bestimmung der Carbaminsäure nach 583.
Magnesium, Vorkommen 165. — Eigenschaften 167. — Nachweis 167. — Bestimmung 171. — durch Wägen 171. — durch Titrieren 172. — Indirekte Bestimmung des Calciums u. Magnesiums 173.
Magnesiumchlorid im Harn 75.
Magnesiumphosphat, ausgesalzen durch Magnesiumsulfat 19.
— in Sedimenten 1552.
Magnesiumsalze, Vorkommen im allgemeinen 1. 70.
Magnesiumsulfat zum Aussalzen 1086.
Magnus-Levy, Bestimmung der β-Oxybuttersäure nach 282. — Eiweisskrystalle 1188.
Meixner, Bestimmung d. Harnalbumosen nach 1216.
Malachitgrünprobe von Adler 1231.
Malfatti, Entfernung des Ammoniaks aus dem Harn nach 538. — Formoltitration des Ammoniaks nach 535. — Nachweis der Lactose nach 459.
Maltose, Vorkommen 463. — Eigenschaften und Nachweis 438. 464.
Maltosephenylosazon 339.
Mannose, Vorkommen 449. — Eigenschaften 449. — Nachweis 450.
Mariani, Bestimmung des Chinins im Harn 1490.
Marshscher Apparat 1434.
Massenwirkungsgesetz 20.
Mastix als Mittel zur Enteiweissung d. Harns 1126.
Mauban, Nachweis des Acetons nach 245.
Mayer, O., Bestimmung d. Gesamteiweisses 1142.
Meissner, Base unbekannter Konstitution nach 708. — Darstellung der Hippursäure nach 823.
Melanin u. Melanogen, Vorkommen 1283. 1286. 1313. — Eigenschaften 1314. — des Farbstoffs 1314. — des Chromogens 1316. — Nachweis 1316.
Melanogen 1313.
Melanotischer Harn 1396.
Melassinsäure 294.
Mentholglykuronsäure 1498. 1514.
Mercaptale 286.
Mercurinitrat, Fällung des Harns mit M. nach Patein u. Dufau 1126.
Merk, Bestimmung des Acetons nach 260.
Messinger, Bestimmung des Acetons nach 254.
Messinger u. Vortmann, Reaktion auf Phenol 772. 784.
Mester, Bestimmung des Cystins nach 628.
Mesoporphyrin 1322.
Metalle als zufällige Bestandteile d. Harns 1414.
Metaphosphorsäure als Eiweissreagens 1088. 1114. 1121. 1166. 1176.
Methämoglobin 1084. 1222. 1233. 1283.
Methylalkohol im Harn 1458.
7-Methyl-8-Dimethylaminoxanthin 908.
1-Methyl-2-6-Dioxypurin 970.
3-Methyl-2-6-Dioxypurin 971.
7-Methyl-2-6-Dioxypurin 972.
Methylenhippursäure 820.
Methylglyoxalidin 1475.
Methylguanidin, Vorkommen 694. 722. 727. — Eigenschaften 695. — Physiologisches Verhalten 697. — Darstellung und Nachweis 698. — nach Achelis 698. — nach Kutscher und Lohmann 699. — nach Engeland 699.
7-Methylguanin 959.
Methylmercaptan, Vorkommen 625. 756. — Eigenschaften 757. — Nachweis 758.
Methylmorphinäther, Vorkommen im Harn 1494.
Methylorange, Verhalten gegen Phosphate 125.
Methylphenylläviuloseosazon 443.
Methylpropansäure 201.
Methylpropylphenol im Harn 1471.
Methylpurine 904. 920.
4-Methylpyridin, Vorkommen 705. — Eigenschaften und Darstellung 706.
Methylpyridiniumhydroxyd 702.
Methylxanthine, physiologisches Verhalten 930.
1-Methylxanthin, Vorkommen u. Eigenschaften 908. 970. — Nachweis 971. — Darstellung 992 f.
3-Methylxanthin 971. 908.
7-Methylxanthin 908.
Meyer, E., Isolierung d. p-Amidophenols aus Harn 1479. — Darstellung d. Homogentisinsäure nach 859.
Michailow, Reaktion auf Eiweiss nach 1096.
Microben, urophage 565.
Micrococcus ureae, Zersetzung der Hippursäure durch 819.
— — Pasteuri 550. 1592.
Mikroorganismen im Harn 1589. —

Digitized by Google

(Vgl. Sedimente.) — Zersetzung der Harnsäure durch 1031. — bei der Harngärung 29. 592. 604. 613. 625.
Milch, fäulnishemmende Wirkung 90.
Milchsäure, Vorkommen 222. 519. — Eigenschaften 224. — Nachweis 227. — als Zinksalz 230. — Quantitative Bestimmung 233. — inaktive 222. 224. — Einfluss auf die Reaktion des Harns 23.
Milchsäure-d 222. 226.
Milchsäurebacillus 1592.
Milchsäuregärung 458. 476.
Milchsäurehefe 347.
Milchzucker, Vorkommen 453. — Eigenschaften 438. 455. 464. — optisches Verhalten 456. — Gärung 458. — Nachweis 459. — Reindarstellung aus Harn 461
Millardsches Reagens 1176.
Millonsche Reaktion 1091. 1099. 1167. 1177. 1260. 1265. 1270.
Mineralcylinder im Harn 1588.
Mineralquellen, Einfluß auf die Purinausscheidung 914.
Mingin 711. 717.
Minkowski, Nachweis der β-Oxybuttersäure nach 279.
Miquel, Bestimmung des Harnstoffs nach 565.
Mittelbach, Bestimmung d. Gesamteiweisses 1140.
Mörner, Nachweis der Acetessigsäure nach 271. — Alkaptochromreaktion 856. — Bestimmung des Harnstoffs nach 570. — Methoden zum Nachweis d. normalen Eiweissgehaltes des Harns 1098.
— -Sjöqvist, Bestimmung des Harnstoffs nach 571.
Mohr, Chloridbestimmung nach 79.
— Bestimmung des neutralen Schwefels 107.
Mohrsche Wage 6.
Molekulardiurese 16.
Molekulargewichte, häufig vorkommender Verbindungen 1615.
Molekulare Konzentration des Harns 10.
Molisch, Furfurolreaktion nach 1092.
— Nachweis von Kohlehydraten nach 324.
Molybdänsäure als Eiweissfällungsmittel 1117. — als Eiweissreagens 1088. 1121.
Monaminosäuren 491. 503. 641. — Verhalten gegen Phosphorwolframsäure 491.
Monochromatisches Licht zur Polarisation 42.
Monomethylxanthin, Vorkommen im Harn 1495.
Mononatriumphosphat, Einfluss auf die Reaktion des Harns 23.
Monosaccharide 284. 285. — Reduktionsvermögen 285. — Furfurolreaktion 285. — Gruppenreaktionen 285. — optisches Verhalten 285. — Gärvermögen 286. — Verbindungen 286.
Monourate 1006. 1016.
Moore-Hellersche Probe auf Zucker 293.
Mooser, Bestimmung der Phenole nach 786.
Moosers Urogon 783.
Morawitz u. Dietschy, Nachweis von Albumosen nach 1215.
Moritz, Bestimmung des Zuckers nach 403.
Morphium, Vorkommen im Harn und Eigenschaften 1491. — Nachweis im Harn 1492. — nach Dragendorff u. Kauzmann 1492. — nach Autenrieth 1493. — nach van Rijn 1494.
Mucin 1084. 1097. 1116. 1162. — Reduktionsvermögen 302.
Mucinartige Substanz im Harn 1097. 1098. 1119. 1160. 1170. 1548. — bei Krankheiten 1171. — Alkaloidreaktionen 1176.
Müller, F., Spektrophotometrische Bestimmung d. Indigblau nach 811. — spektrophotometrisch. Bestimmung d. Urobilins 1398.
Mulders neutraler Punkt 83. 96.
Murexidreaktion 1029. 1041. 1072. 1075.
Myosin 1197.
Myristinsäure, Vorkommen in Harnsteinen 1604.
Myrosin zur Spaltung von gepaarten Glykuronsäuren 1505.

Nachdunkeln d. Harns an der Luft 1286.
Nahrungseiweiss im Harn 1123.
Nakayama, Nachweis von Gallenfarbstoffen nach 1363.
Naphtalin, Vorkommen im Harn 1472.
Naphtalinsulfoverbindungen der Aminosäuren 587 (vgl. auch die betr. Aminosäuren).
Naphtol, Vorkommen im Harn 1472.
α-Naphtol, Reaktion der Glykuronsäure mit 1504.

Digitized by Google

Naphtoldisulfosäuren als Eiweissfällungsmittel 1088.
Naphtolglykuronsäure 1472. 1505. 1514.
Naphtolresorcinprobe auf Glykuronsäure 1502.
Naphtoltrisulfosäuren als Eiweissfällungsmittel 1088.
Naphtylisocyanatverbindungen der Aminosäuren 587 (vgl. auch die betr. Aminosäuren).
Nasse, Reaktion auf Phenol nach 770.
Natrium, Vorkommen 155. — Eigenschaften 156. — Nachweis 156. — Bestimmung 158. — des Natriums u. Kaliums nebeneinander 158. — nach Lehmann 158. — nach Přibram u. Gregor 160. — nach Bunge 160. — nach Salkowski u. Munk 160. — — nach Garrat 161. — nach Léon Garnier 161.
Natriumbikarbonat als harnsäurelösendes Mittel 1035.
Natriumchlorid zum Aussalzen der Eiweissstoffe 1086. — im Harn 74.
Natriumquecksilberchlorid als Eiweissreagens 1118.
Natriumsalze, Vorkommen im allgemeinen 1. 69.
Natriumsulfantimoniat als Eiweissreagens 1088.
Natriumsulfat zum Aussalzen der Eiweissstoffe 1086.
Nencki u. Schoumow-Simanowsky, Bestimmung von Jodwasserstoff nach 1448.
— u. Sieber, Darstellung des Uroroseins nach 889.
— u. Zaleski, Bestimmung des Ammoniaks im Harn nach 529.
Nephritis kolloidale Substanzen im Harn bei 18. — Kochsalzretention bei 73.
Nephrorosein 902.
Neubauer, Bestimmung des Kreatinins nach 675. — des Magnesiums nach 172. — der Oxalsäure nach 216. — der Gesamtschwefelsäure nach 95.
— u. Rhode, Reaktion auf Eiweiss nach 1094.
Neuberg, Bestimmung der Phenole nach 785. — Übersicht der zur Paarung mit Glykuronsäure geeigneten Stoffe nach 1506. — Nachweis der Fruktose nach 443. — Bestimmung der Pentosen nach 373.
— u. Manasse, Bestimmung der Aminosäuren nach 642.
Neuberg u. Mayer, Nachweis der Mannose nach 449.
Neumann, Nachweis der Pentosen nach 371. — Phenylhydrazinprobe nach 341. — Bestimmung des Eisens nach 185. — der Gesamtphosphorsäure nach 134. — der ionalen Phosphorsäure nach 136. — Veraschung auf feuchtem Wege nach 67. 84. 158. 170.
Neurin im Harn 739.
Neutraler Schwefel 746 (vgl. Schwefel. neutraler).
Neutralisationsfähigkeit des Harns 24. 26.
Neutralisationspunkt 26.
Neutralität des Organismus 24.
Neutralitätskurve 23.
Neutralrot als Indikator 25.
Nichtdialysable Substanz im Harn 1100 (vgl. adialysable Substanz).
Nicolas, Nachweis des Indoxyls nach 806.
Nicolle, Bestimmung von Jodwasserstoff nach 1448. — Bestimmung von Bromwasserstoff nach 1452.
Niemilowicz, Bestimmung der Purinbasen 982.
Nieren, Zellen der in Sedimenten 1581.
Nishi, Bestimmung des Chinins im Harn 1489.
Nitrate vgl. Salpetersäure.
Nitrite vgl. salpetrige Säure.
p-Nitrobenzaldehyd als Eiweissreagens 1095.
Nitrobenzol, Verhalten im Organismus 1483.
Nitrobenzylglykuronsäure 1515. 1517.
Nitrophenol-p, Verhalten gegen Phosphate 125. — als Indikator 25.
Nitroprussidnatrium als Eiweissreagens 1088. 1113.
Nonose 284. 345.
Normale Bestandteile des Harns 65.
Normalsalzsäure, Darstellung 1614.
Novain 711. 719. 727.
Novaspirin, Verhalten im Organismus 1467.
Nubecula 19. 1097. 1583.
Nucleasen 1082 g.
Nucleinbasen 1082c.
Nucleine 1082 c. 1265.
Nucleinsäuren, Vorkommen u. Eigenschaften 193. 212. 1082c, e. 1084. 1098. 1100. 1170. 1178. 1264. — Nachweis 1266. — Allgemeine Eigenschaften 1082 f. — Schicksal im Organismus 1082 f. — im engeren

Digitized by Google

Sinne 1082 i. — die tierischen Nucleinsäuren 1082 i. — die Thymonucleinsäure 1082 k. — die Harnnucleinsäure 1082 o. — die pflanzlichen Nucleinsäuren 1082 p. — Nucleotide 1082 q. — Guanylsäure 1082 q. — Inosinsäure 1082 r. — Nucleoside 1082 s. — Guanosin u. Xanthosin 1082 s. — Adenosin 1082t. — Inosin 1082 t. — Carnin 1082 u. — Beziehung zur Harnsäure 1006. — als Muttersubstanzen der Purinkörper 906. 911. 919. — als Eiweissreagens 1088. 1265.
Nucleoalbumin 730. 1084. 1097. 1162. 1170. 1173. 1180. 1265.
Nucleoalbuminartige Substanz im Harn 1097. 1098.
Nucleohiston 1181. 1265.
Nucleon 1268.
Nucleoproteid 1082 c. 1178. 1181. 1265. — aus Nieren 1179. — Eigenschaften und Erkennung 1082 d.
Nucleoproteide, Bildung im Organismus 907. 1082 c.
Nucleosiddesamidase 1082 i.
Nucleoside s. unter Nucleinsäuren 1082 e. 1082 h. 1082 n. 1082 s.
Nucleothyminsäure 1082 n.
Nucleotide s. unter Nucleinsäuren 1082 e.
Nucleotin 1082 n.
Nucleotinphosphorsäure 1082 n.
Nutztiere, Harnanalysen 70.
Nylandersche Probe 313.

Oberflächendruck 18.
Oberflächenspannung des Harns 17. — Herabsetzung durch Gallensäuren 1277. 1359.
Obermayer, Eiweissreaktion nach 1095. — Nachweis des Indoxyls nach 805.
Obermayersches Reagens zum Nachweis v. Gallenfarbstoffen 1361.
Ochronose 1313.
Octose 284.
Ölsäure, Vorkommen im Harn 205.
Omichmyloxyd 1286.
Omicholsäure 1302.
Optische Methode zur Bestimmung des Eiweissgehaltes des Harnes 1135.
Optisches Verhalten der Zuckerarten 285. 418.
Organische Bestandteile des Harns 191.
Organische zufällige Bestandteile im Harn 1455.
Orientierungsmethoden im Spektrum 57 (vgl. Spektrophotometrie.)
Ornithin-d 639. — Zersetzungsprodukte des 684.
Ornithursäure im Harn der Hühner 818.
Orthophenolsulfosäure als Eiweissreagens 1088. 1115.
Osamine 334.
Osazone der Harnkohlehydrate 332.
Osmotischer Druck des Harns 10. — Blutkörperchenmethode von Hamburger 16.
Osmotoxizität 725.
Osone 334.
Oswald, Bestimmung des Albumins u. Globulins 1152.
Ott, Verfahren zum Nachweis des normalen Eiweisses im Harn 1099.
Oxalsäure, Vorkommen im Harn 211. 540. — Eigenschaften 213. — Nachweis 215. — Bestimmung 216. — Entstehung aus Huminkörpern 1311. 1312. — Einfluss auf die Purinausscheidung 914.
Oxalsaurer Kalk, Vorkommen in Sedimenten 1554. — Eigenschaften 1556. — Nachweis 1557. — Vorkommen in Konkrementen 1600. 1602.
Oxalursäure als Oxalsäurebildner 212. 215. — Verhalten gegen Phosphorwolframsäure 491.
o-Oxybenzoesäure, Vorkommen im Harn 1467.
p-Oxybenzoesäure, Vorkommen und Eigenschaften 846.
Oxybuttersäure-β. Vorkommen 236. 265. 266. 274. — Eigenschaften **276**. 353. 464. — Nachweis 279. — Quantitative Bestimmung 281. — durch Überführung in α-Crotonsäure 281. — durch Bestimmung der optischen Aktivität 281. 420. — durch Oxydation zu Aceton 283. — Einfluss auf die Reaktion des Harns 23.
γ-Oxychinolin-β-carbonsäure 868.
Oxychinolinglykuronsäure 1515. 1517.
Oxyfleischsäure 1270.
Oxyhämoglobin 1218.
Oxymandelsäure im Harn 848.
p-Oxyphenylessigsäure s. Paraoxyphenylessigsäure.
Oxyphenylgruppe, Bedeutung für die Biuretreaktion 1090.
p-Oxyphenylmilchsäure s. Paraoxyphenylmilchsäure.
p-Oxyphenylpropionsäure s. Paraoxyphenylpropionsäure.

Oxyphenylschweflige Säure als Eiweissreagens 1115.
Oxyproteinsäuren s. auch Proteinsäuren. —Vorkommen 586. 1239. 1304. — Eigenschaften 491. 503. 564. 641.
6-Oxypurin 961.
Oxypurine 904.
Oxysantonine im Harn 1477.
Oxysäuren, aromatische, im Harn 764. 842. — des normalen Harns 842.

Paidose 453.
Palmitinsäure, Vorkommen in Harnsteinen 1604.
Pankreasdiabetes 380.
Paraamidoacetophenon s. Diazoreaktion 1256.
Paraamidobenzolsulfosäure s. Diazoreaktion 1252.
Paraamidophenol, Ausscheidung durch den Harn 1479.
Paraamidophenolglykuronsäure 1505.
Parabansäure 1072.
Paraglobulin s. Serumglobulin 1154.
Parakresol im Harn s. Kresol 764.
Paramilchsäure 222.
Paraoxybenzoesäure, Vorkommen und Eigenschaften 846.
Paraoxyphenyl-α-aminopropionsäure vgl. Tyrosin.
Paraoxyphenylessigsäure, Vorkommen 842. — Eigenschaften 842. — Darstellung 843. — Nachweis 844.
Paraoxyphenylmilchsäure, Vorkommen u. Eigenschaften 847. — Darstellung 848.
Paraoxyphenylpropionsäure, Vorkommen 842. — Eigenschaften 845. — Darstellung und Nachweis 846.
Paraphenylendiaminprobe v. Boas 1231.
Parasiten, tierische, Vorkommen i. Harn 1598.
Paraxanthin 908. 931. 975. — Darstellung u. Nachweis 976. 990.
Patein u. Dufau, Vorbehandlung des Harns mit Merkurinitrat nach 307. 394. 419.
Pathoamine 722.
Pathogene Mikroorganismen im Harn 1593.
Pathologische Bestandteile des Harns im allgemeinen 1.
Pavy-Kumagawa-Suto, Bestimmung d. Zuckers nach 399.
Pečirka, Bestimmung des Jodwasserstoffes nach 1446.
Penicillium glaucum, Vorkommen im Harn 1591.
Pentamethylendiamin s. Cadaverin 683. 688.
Pentosen, Vorkommen 284. 325. 353. 1082 p, r, s, t. — Eigenschaften 357. 464. — r-Arabinose 357. — l-Arabinose 358. — d-Arabinose 359. — l-Xylose 359. — Rhamnose 361. — Ribose 1082 p, r, s, t. — Phloroglucinreaktion 364. — Orcinreaktion 367. — Phenylhydrazinprobe 371. — Probe von Cammidge 372. — Quantitative Bestimmung im Harn 373. — Fällung mit Benzoylchlorid 325. 330. — als Spaltstück v. Nucleinsäure 1082 p, r, s, t.
Pentosurie 353. — alimentäre 356.
Penzoldt, Nachweis des Acetons nach 249. 251.
Pepsin, Vorkommen im Harn 1522. 1523. — Nachweis u. Bestimmung der peptischen Wirksamkeit 1525. — Fibrinflockenverfahren 1526. — Caseinverfahren 1528. — Ricinverfahren 1528. — Edestinverfahren 1529.
Peptide 646. 1247.
Peptisches Ferment, Vorkommen im Harn 1522.
Pepton 1084. 1091. 1097. 1113. 1115. 1116. 1117. 1119. 1192. 1200. — Nachweis von echtem 1216. — Benzoylverbindungen 325.
Permanganat z. Entfärben des Harns 1349.
Peska, Bestimmung des Zuckers nach 404.
Pestbacillen, Vorkommen im Harn 1594. 1597.
Pettenkofer, Bestimmung des Kohlenstoffes im Harn nach 509.
Pettenkofersche Reaktion auf Gallensäuren 1275.
Petri, Diazoreaktion nach 1095.
Petry, Bestimmung des Neutralschwefels nach 105.
Pfaundler, Bestimmung der Aminosäuren nach 641. — des gesamten Stickstoffs nach 492.
Pfeiffer, Bestimmung der Salpetersäure nach 153.
— Bloch u. Riecke, Bestimmung der Hippursäure 830.
Pferdeharn 19. 70. 71. 103. 198. 500. 518. 577. 652. 746. 764. 781. 793. 796. 799. 838. 842. 846. 849. 866. 1118. 1171. 1205. 1212. — Indikanreich-

tum 882. — Gehalt an Urorosein 887. — Diazoreaktion 1253. — Huminsubstanzen aus 1310.
Pflanzenfresser, Harn der 31. 115. 116. 198. 237. 500. 502. 765. 777. 817. 838. 1118.
Pflüger, Bestimmung des Harnstoffs nach 566. 574.
— -Allihn, Bestimmung des Zuckers nach 409.
Phenacetin, Verhalten im Organismus 1480.
Phenacetursäure, Vorkommen 838. — Eigenschaften 838. — Darstellung u. Nachweis 840.
Phenetidinreaktion 1481.
Phenetolglykuronsäure 1515. 1517.
Phenocoll, Verhalten im Organismus 1480.
Phenol, Vorkommen im Harn 764. 765. — Eigenschaften 767. — Einfluss auf die Farbe des Harns 2. — Physiologisches Verhalten 772. — Nachweis 773. — Bestimmung 784. — Gemeinsame Bestimmung des Phenols u. Parakresols 784. — Methode von Messinger u. Vortmann in der Ausführung von Koßler u. Penny 784. — Modifikation von Neuberg 785. — Modifikation von Mooser 786. — Ausschüttelungsverfahren von Ellinger-Hensel 788. — Getrennte Bestimmung des Phenols u. Parakresols nach Siegfried u. Zimmermann 788. — kolorimetrische bzw. spektrophotometrische Bestimmung d. Phenols 793. — als Eiweissreagens 1116. 1121.
Phenolglykuronsäuren, Vorkommen 764. 775. 1505. 1511. — Eigenschaften 776. — Darstellung u. Nachweis 776.
Phenolphtalein als Indikator 26. Verhalten gegen Phosphate 125. s. auch Purgen.
Phenolphtaleinprobe auf Blut 1232.
Phenolschwefelsäure 764. 774.
Phenylalanin 585. — als Muttersubstanz der Hippursäure 818. — Beziehung zur β-Oxybuttersäure 238.
Phenylhydrazinverbindungen der Kohlehydrate 332 (vgl. Kohlehydrate).
Phloroglucin-Salzsäure, Farbenreaktion auf Glykuronsäure 1502.
Phosphate vgl. Phosphorsäure.
Phosphatgehalt des Harns 23. 126.
Phosphatsteine im Harn 115. 1602.
Phosphaturie 1550.
Phosphor, organischer 117. 193. — Sauerstoffverbindungen des — ihre, Aufnahme durch den Organismus 116.
Phosphorfleischsäure 1268.
Phosphormolybdänsäure als Eiweissfällungsmittel 1118. — als Eiweissreagens 1087.
Phosphornuclease 1082 h.
Phosphorproteide des Harns 1179. — Eigenschaften 1180. — Nucleoalbumine 1180. — Nucleoproteide 1181. — Nucleohiston 1181. — Histon s. dort 1183. — Bence-Jonesscher Eiweisskörper s. dort 1184. — der krystallinische Eiweisskörper d. Harns 1190.
Phosphorsäure, Vorkommen 1. 23. 69. 115. 126. 208. — Organischer Phosphor 117. 193. — Eigenschaften 118. — die zweifach sauren Phosphate 118. — die einfach sauren Phosphate 120. — die normalen Phosphate 122. — die basischen Phosphate 123. — Verhalten der Phosphate gegen Indikatoren 123. — Nachweis der Phosphate 133. — Abscheidung der Phosphorsäure 133. — Bestimmung der Gesamtphosphorsäure 134. — der ionalen Phosphorsäure 136. — alkalimetrisch 136. — durch Silberfällung 137. — durch Titration mit Uransalzen 138. — des zweifach und des einfach sauren Phosphats nebeneinander 141. — der Acidität 143. — als Spaltstücke der Nucleinsäuren 1082 c, e, k. 1264.
Phosphorsaure Salze als Bestandteile d. Sedimente 1549. — Eigenschaften 1552.
Phosphorsaurer Kalk, Vorkommen in Konkrementen 1600.
Phosphorsaures Magnesium, Vorkommen in Konkrementen 1600.
Phosphorvergiftung, Einfluss auf die Purinausscheidung 914. 1005.
Phosphorwolframsäure, Darstellung der Lösung 875. — als Eiweissreagens 1087. 1167. — als Eiweissfällungsmittel 1118. 1126. — volumetrische Bestimmung des Eiweisses 1146. — Nachweis von Albumosen 1210. — zur Fällung von Harnsäure 1023.
Phylloporphyrin 1322. 1324.
Phymatorhusin 1286. 1313.
γ-Picolin s. 4-Methylpyridin 705.
Pigmentcylinder im Harn 1588.

Digitized by Google

Pigmente, Vorkommen im allgemeinen 1. — Vorkommen in Sedimenten s. Sedimente 1568.
Pikrinsäure, Vorkommen im Harn 1469. — zur Fällung von Harnsäure 1024. — als Eiweissreagens 1087. 1116. 1121. 1166. 1177.
Pikrolonsäure als Eiweissreagens 1087.
Pilocarpin, Einfluss auf die Purinausscheidung 914. 1005.
Pinoff, Nachweis der Fruktose nach 440.
Piperazin, Vorkommen u. Nachweis im Harn 1464. 1475. — als harnsäurelösendes Mittel 1035.
Piuri, Ausgangsmaterial zur Darstellung d. Glykuronsäure 1498. 1513.
Plasmolyse 17.
Platinsalze zur Fällung von Eiweiss 1087.
Plósz, Darstellung des Indigrots 884. — Methoden zum Nachweis des normalen Eiweisses im Harn 1098. — Uromelanin 1307.
Pneumaturie 30.
Pneumonie, Kochsalzretention bei 73.
Pohl, Bestimmung des Albumins und Globulins 1151.
Polarimeter 33 (vgl. Halbschattenapparat u. Saccharimeter). — nach Laurent 34. 38. — nach Lippich 34. 38. — nach Cornu 35. — Bestimmung des Eiweisses mit dem 1148. 1153.
Polarimeterrohre 44.
Polarisation 32. — Hilfsapparate zur 42. — Nachweis des Harnzuckers durch 352.
Polarisationsapparat nach Landot 41.
Pollacci, Modifikation des Spieglerschen Reagenses 1119. 1121.
Polypeptidartiger Körper von Abderhalden u. Pregl 1247 (vgl. a Peptide).
Polysaccharide vgl. Disaccharide 284.
Porcher, Nachweis der Glucose nach 344.
Posner, Methoden zum Nachweis des normalen Eiweisses im Harn 1098.
Pouchet, Base unbekannter Konstitution nach 708.
Präzipitine im Harn 1123.
Presch, Bestimmung des Thiosulfats nach 113.
Preyers Hämatin 1319.
Přibram u. Gregor, Bestimmung von Kalium u. Natrium nach 160.
Pringsheim, Bestimmung von Alkohol im Harn 1456.
Propantriol 192.
Propionsäure, Vorkommen 197. — Eigenschaften, Nachweis und Bestimmung 200. — Erzeugung durch Bakterien 30.
Prolin 586.
Protalbumose 1084. 1193.
Protamin als Fällungsmittel für Albumosen 1199.
Protaminähnliche Verbindung v. Engeland 718.
Proteide 491. 1083. 1097.
Proteine, Vorkommen im allgemeinen 1. 1100. — Einfluss auf die Oberflächenspannung 18.
Proteinsäuren des Harns, Vorkommen u. Bedeutung 1234. — bei Krankheiten 1236. — Antoxyproteinsäure 1237. 1253. 1254. — Eigenschaften 1237. — Darstellung u. Nachweis 1238. — Oxyproteinsäure 1239. — Eigenschaften 1239. — Nachweis u. Darstellung 1240. — nach Bondzynski u. Gottlieb 1240. — nach Bondzynski, Dombrowski u. Panek 1240. — Alloxyproteinsäure 1242. — — Eigenschaften 1242. — Nachweis u. Darstellung 1243. — Uroferrinsäure v. Thiele 1243. — Eigenschaften 1244. — Darstellung 1245. — Die stickstoffenthaltende Säure von Hári 1246. — der polypeptidartige Körper von Abderhalden u. Pregl 1247. — Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Oxyproteinsäurefraktion. — nach Salomon u. Saxl 1248. — nach Ginsberg 1250. — nach Gawinski 1250. — Bleiverfahren nach Kojo 1250. — Zinkverfahren nach Kojo 1251. — direktes Verfahren nach Kojo 1251. — Alkoholverfahren nach Salkowski 1251. — Beziehung zum neutralen Schwefel 103. — Beziehung zum Urochrom 1304.
Proteolytisches Zellferment, Vorkommen im Harn 1522. 1538.
Proteus vulgaris, Vorkommen im Harn 1594.
Protokatechusäure 1284. — als Muttersubstanz der Huminkörper 1312.
Pseudoglobulin 1084.
Ptomaine im Harn 722. 1173. — Darstellung u. Nachweis 743. — nach Luff u. Griffiths 743. — nach Brieger 744. — nach v. Udránszky u. Baumann 744. — nach Gardeur 745. — nach Guillemard u. Vranceano 745. — Verhalten gegen Phosphorwolf-

Digitized by Google

ramsäure 491. — Physiologisches Verhalten 723.
Purgen, Verhalten im Organismus 1476.
Purin 906.
Purinbasen, Gehalt der Nährstoffe an 916—919. — in Nucleinsäuren 1264.
Purine 1. 491. 503. — im Kot 920.
Purinkörper, fermentativer Abbau 926f.
Purinnuclease 1082 h.
Purinstoffe, Konstitution 904. — I. Allgemeine Übersicht 906. — Physiolog. Verhalten 906. — d. endogene Purinausscheidung 909. — d. exogene Purinausscheidung 916. — d. Verteilung der Purinstoffe im Harn und ihr Schicksal im Organismus 925. 1082 c. e. — Allgemeine Eigenschaften 931. — die Synthese der Purine 932. — die Farbenreaktionen 938. — Weidelsche Probe 938. — Xanthinprobe mit Salpetersäure 938. — Bestimmung des Gesamtpurinstickstoffes 940. — Fällung als Silberoxydulverbindung nach Camerer-Arnstein 941. — Fällung als Kupferoxydulverbindung nach Krüger u. Schmid. 946. — II. Die Purinbasen 948. — die einzelnen Purinbasen 948. — Adenin s. dort 948. — Guanin s. dort 954. — Epiguanin s. dort 959. — Hypoxanthin s. dort 961. — Episarkin s. dort 965. — Xanthin s. dort 965. — 7-1-Methylxanthin s. dort 970. — 8-3-Methylxanthin s. dort 971. — Heteroxanthin s. dort 972. — Paraxanthin s. dort 975. — Quantitative Bestimmung der Purinbasen 976. — direkte Verfahren 979. — durch Fällen als Silbersalz 979. — nach Salkowski 979. — nach Ludwig 981. — nach Kennaway 982. — nach Niemilowicz 982. — durch Fällen als Kupferoxydsalz nach Krüger und Schmid 983. — durch Fällen mit Phosphorwolframsäure 984. — durch Titrieren mit Silbersalz 984. — Indirekte Verfahren 985. — nach Haycraft u. Herrmann 985. — nach Denigès 986. — nach Camerer 987. — Darstellung, Trennung u. Identifizierung der Purinbasen 988. — Trennung der Basen in Verbindung mit salpetersaurem Silber 989. — Xanthinfraktion 990. — Hypoxanthinfraktion 994. — Trennung d. Basen in den salzsauren Mutterlaugen der Harnsäure 997. — Darstellung von Theobromin u. Kaffein 1000. 1495. — III. Die Harnsäure s. dort. 1000. — IV. Das Allantoin s. dort 1065.
Purinstoffwechsel 503. 539.
Purpursaures Ammonium 1029.
Putrescin, Vorkommen 640. 683. 685. — Eigenschaften 685. — Alkaloidreaktionen 686. — Benzoylverbindung 686. — Phenylcyanatverbindung 687. — Physiologisches Verhalten 688.
Pyknometer 4. 8. — nach Sprengel 9. — nach Ostwald 10.
Pyramidon, Verhalten im Organismus 1482.
Pyridylmethylammoniumhydroxyd, Vorkommen 702. — Eigenschaften 703. 727. — Physiologisches Verhalten 704. — Darstellung 704.
Pyrimidinbasen 722. 1082 c, e. — als Bestandteile d. Nucleinsäuren 1264.
Pyrogallol als Muttersubstanz d. Huminkörper 1312.
Pyrophosphorsäure, Vorkommen i. Harn 1441.
Pyrrol, Entstehung aus Hämatoporphyrin 1323. — Übergang in Urobilin 1377. — Ehrlichsche Aldehydreaktion mit 1408.

Quadriurate, Sediment aus 1032. 1544.
Quecksilber als zufälliger Bestandteil d. Harns, Vorkommen 1414. — Eigenschaften 1415. — Nachweis 1416. — Bestimmung 1419. — nach Winternitz 1419. — nach Jolles 1420. — nach Ludwig u. Zillner 1420. — nach Schumacher u. Jung 1420. — nach Jäneke 1422. — nach Raaschou und Hintz 1423. — nach Siebert 1424. — nach Farup 1425.
Quecksilberchlorid als Eiweissreagens 1087. 1118. 1121.
Quecksilbersalze zur Fällung von Eiweiss 1087. 1118.

Raaschou u. Hintz, Bestimmung von Quecksilber im Harn 1423.
Radiumemanation, Einfluss auf die Purinausscheidung 914. 1005.
Reaktion des Harns 20.
Rechtsmilchsäure 222. 226.
Recurrensspirillen, Vorkommen im Harn 1594. 1597.

Digitized by Google

Reduktionsvermögen des Zuckers 285. — des Harns bei abnormem Zuckergehalt 293. — Moore-Hellersche Probe 293. — Kupferproben 297. — — Trommersche Probe 297. — Verlauf der Probe im Harn 303. — kupferlösende Stoffe im Harn 304. — reduzierende Stoffe ausser Zucker 302. — Vorbehandlung des Harns mit Merkurinitrat 307. — Entfärben mit Tierkohle 308. — Worm-Müllersche Probe 309. — Wismutproben 311. — Böttgersche Probe 311. — Nylandersche Probe 313. — Reduktion infolge Anwesenheit anderer Stoffe als Zucker 315. — weitere Reduktionsproben 316. — mit alkalischer Quecksilberoxydlösung 316. — mit Silber- und Goldoxydlösung 316. — mit alkalischer Orthonitrophenylpropiolsäure 318. — Hoppe-Seylers Indigprobe 319.

Reduktionswirkung des normalen Harns 28. 287. 302.

Reduktonovain 711. 719.

Reduzierende Substanzen, Entstehung aus Nucleinsäuren 1266.

Reduzierender Zucker, Bestimmung 1613.

Refraktometer, Bestimmung des Eiweisses 1135. — zur Bestimmung der Brechung des Harns 3.

Reichardt, Nachweis des Glykogens nach 473. — Nachweis des Arsens 1436.

Reichl, Eiweissreaktion von 1095.

Rem-Picci, Bestimmung der Hippursäure 826.

Reptilienharn 746. —(vgl. Schlangenharn).

Resorcin, Einwirkung auf den Harn 1312.

Reststickstoff 495.

Reynolds, Nachweis des Acetons nach 247. 251.

Rhabarber, Verhalten im Organismus 1475.

Rhabditis genitalis, Vorkommen im Harn 1598.

Rhamnose 361.

Rhamnosephenylhydrazon 335.

Rhamnosephenylosazon 335.

Rheum, Einfluss auf die Farbe des Harns 1225.

Rhodankalium als Eiweissreagens 1088. 1113. 1121.

Rhodanwasserstoff, Vorkommen 101. 491. 496. 746. — Eigenschaften 748. — Nachweis u. Isolierung 751. — nach Munk 752. — nach Gscheidlen 752. — nach Bruylants 752. — Bestimmung 753. — als Silberverbindung 753. — kolorimetrisch 753. — jodometrisch 754.

Rhodanverbindungen, Verhalten gegen Phosphorwolframsäure 491.

Rhodizonsäure 475.

Ribose 1082 p, r, s, t.

Ricinverfahren zur Bestimmung der peptischen Wirksamkeit des Harns 1528.

Riegler, Chloridbestimmung nach 86. — Bestimmung der Salpetersäure nach 150. — Bestimmung des Zuckers nach 418. — Nachweis der Acetessigsäure nach 272. — Bestimmung des Acetons nach 261.

Rinderharn 746. 1172. 1205. — Indikanreichtum 882. — Gehalt an Urorosein 887. — Diazoreaktion 1253. — Harnasche 71.

Ripper, Bestimmung des Eisens nach 183.

Riva u. Zoja, Nachweis des Hämatoporphyrins 1340.

Roaf, Darstellung der Hippursäure 824.

Roberts-Stolnikoff, Verfahren zur Bestimmung des Eiweisses 1137.

Röhmann, Bestimmung der Salpetersäure nach 152.

Rohrzucker vgl. Saccharose 462.

Rona u. Ottenberg, Formoltitration des Ammoniaks nach 489.

Ronchèse, Formoltitration des Ammoniaks nach 535.

Rosenbachsche Probe 1307.

Rosenberger, Nachweis des Inosits nach 476. — Nachweis der Laiose nach 450.

Rosenthaler, Nachweis des Acetons nach 250. 251.

Rosin, Nachweis der Fruktose nach 439. 441. — Darstellung des Indigrots 885.

Rosolsäure, Verhalten gegen Phosphate 125.

Rotzbacillus, Vorkommen im Harn 1594. 1197.

Rubazonsäure, Vorkommen im Harn 1482. — Vorkommen in Sedimenten 1571.

Rubner, Nachweis des Zuckers nach 296. — Nachweis der Lactose nach 457. 459.

Digitized by Google

Rübenharzsäureglykuronsäure 1506.
Rupp u. Rössler, Bestimmung d. Ammoniaks im Harn nach 536.
Rusconi, Verfahren zum Nachweis d. normalen Eiweisses 1099.

Saccharimeter nach Cornu 38. — nach Mitscherlich 39 (vgl. Polarimeter u. Halbschattenapparat).
Saccharimetergrade nach Soleil-Ventzke 47.
Saccharomycesarten 345.
Saccharose 438. 462.
Saccharosurie 462.
Saccharumsäure 294.
Sachsse, Bestimmung des Zuckers nach 415.
Saillet, Nachweis d. Hämatoporphyrins 1341. — Darstellung des Urobilins 1391. — spektrophotometrische Bestimmung des Urobilins 1400.
Salaskin u. Zaleski, Bestimmung des Harnstoffes nach 567. 572.
Salicylglykuronsäure 1467. 1506.
Salicylsäure, Vorkommen, Eigenschaften u. Nachweis im Harn 1467. — Einfluss auf die Purinausscheidung 914. 1007.
Salicylsulfosäure als Eiweissfällungsmittel 1088. 1115. 1121.
Salicylursäure, Vorkommen im Harn 1467. 1469.
Salipyrin, Verhalten im Organismus 1467.
Salkowski, Bestimmung d. Oxyproteinsäuren 1251. — Bestimmung der Purinbasen 979. — stickstoffhaltiges Kohlehydrat 1236. — Nachweis von Gallenfarbstoffen 1360. — Nachweis von Albumosen 1211. — Nachweis d. Arsens 1430. — Nachweis kleinster Eiweissmengen 1122. — Chloridbestimmung nach 78. — Bestimmung der gepaarten Schwefelsäure nach 97. — Bestimmung des Neutralschwefels nach 107. — Bestimmung der Oxalsäure nach 215. 216. — Bestimmung des Thiosulfats nach 112. — Nachweis von Pentosen nach 366. 371. — Nachweis des Harndextrins nach 471. — Darstellung des Harnstoffs aus Harn nach 557. — Bestimmung des Harnstoffs nach 566. — Bestimmung des Kreatinins nach 676.
Salkowski u. Munk, Bestimmung des Kaliums u. Natriums nach 160.
Salol, Verhalten im Organismus 1467.
Salomon u. Saxl, Bestimmung der Oxyproteinsäuren 1248.
Salpetersäure im Harn 69. 147. — Nachweis 148. — Bestimmung 152.
Salpetersäuregärung 28.
Salpetrige Säure im Harn 69. **147.** — Nachweis 149. **150.** — Bestimmung 153. — Entstehung durch Gärung 148.
Salze, feuerbeständige, im Harn 70.
Salzgehalt der Nahrung 10.
Salzsäure, Vorkommen im allgemeinen 1. 69 (vgl. Chlorwasserstoff u. Chloride).
Sandelöl, Verhalten im Organismus 1478.
Sandlund, Bestimmung d. Jodwasserstoffs 1447.
Sanger u. Black, Nachweis des Arsens 1438.
Santalol, Verhalten im Organismus 1478.
Santonin, Einfluss auf die Farbe des Harns 2. 1225. 1283. — Verhalten im Organismus 1476.
Santyl 1478.
Sarcina urinae 1592.
Sarkin 908. **961.**
Sarkosin 657.
Säugetiere, Harnsäure im Harn der 1002.
Säuregemischveraschung des Harns 67. 158. 170.
Säuren, Vorkommen im Harn 72. — aromatische im Harn 815. — heterocyklische 862. — als zufällige Bestandteile im Harn 1441.
Sauerstoff, Vorkommen im Harn 1. 189.
Schaf, Diazoreaktion beim 1253.
Scherer-Huppert, Bestimmung des Gesamteiweisses 1127.
Schiff, Farbenreaktionen auf Zucker nach 324. — Furfurolreaktion 1072. 1075. — Nachweis des Harnstoffs nach 544. 559.
Schimmelpilze, Vorkommen im Harn 1591.
Schlangenharn 32. 502.
Schleimfäden in den Sedimenten 1585.
Schleimgärung 29. 30. 1592.
Schleimhäute, Sekrete der — im allgemeinen 1.
Schleimige Substanz d. Pferdeharns 1174.
Schleimkörperchen 19.
Schleimsäure 446. 447. 449. 461.
Schleimsedimente 1583.

Digitized by Google

Schlesingersche Probe auf Urobilin 1393.
Schliep, Bestimmung der Acetessigsäure nach 273.
Schlösing, Bestimmung der Salpetersäure nach 152.
Schlösing, Bestimmung des Ammoniaks im Harn nach 526.
Schmid, Bestimmung der Aminosäuren nach 641.
Schmiedeberg, Bestimmung des Ammoniaks im Harn nach 534.
Schmied-Kossel, Bestimmung des Harnstoffs nach 566.
Schmitz, Bestimmung der β-Oxybuttersäure nach 282. — Bestimmung des Acetons nach 259. — Bestimmung d. Chinins im Harn 1489.
Schölberg, Farbstoff beobachtet von 901.
Schöndorff, Bestimmung des Harnstoffs nach 574.
v. Schröder, Nachweis des Harnstoffs nach 560.
Schrötters Gaseprouvette 348.
Schultess, Nachweis von Albumosen 1214.
Schulz, F. N., Bestimmung des Neutralschwefels nach 105.
Schulze, M., Furfurolreaktion 1092.
Schulze-Tiemann, Bestimmung der Salpetersäure nach 152.
Schumacher u. Jung, Bestimmung von Quecksilber im Harn 1420.
Schumm, Darstellung d. Homogentisinsäure 860. — Extraktionsmethode z. Nachweis von Hämoglobin im Harn 1223.
Schwarze Körper im Harn 1308.
Schwefel, leicht abspaltbarer im Harn 102. — der neutrale 101. — Nachweis 105. — Bestimmung 106. — Bestimmung d. gesamten neutralen Schwefels. 106. — durch Sodasalpeterschmelze 106. — durch Oxydation mit Salpetersäure 107. — durch Oxydation mit Natriumsuperoxyd 109. — durch Oxydation mit Cuprinitrat 110. — Bestimmung des leicht oxydierbaren Schwefels 110. — nicht oxydierter im Harn 101. — organischer im Harn 101.
Schwefelhaltige aliphatische Verbindungen im Harn 746.
Schwefelsäure, Vorkommen im Harn 69. 87. — Eigenschaften 91. — Nachweis 92. — Bestimmung der Gesamtschwefelsäure 92. — durch Wägung 92. — durch Titration 95. — Bestimmung der gepaarten Schwefelsäure 97. — der Sulfatschwefelsäure 98.
Schwefelsäureester, Vorkommen im allgemeinen 1.
Schwefelsaurer Kalk, Vorkommen in Sedimenten 1557. — Bildung u. Eigenschaften 1558. — Nachweis 1559.
Schwefelwasserstoff im Harn 111. 113. — Nachweis 115.
Schwefelwasserstoffgärung 28. 69. 114. 625. 679.
Schwefelverbindungen, Verhalten der — im Organismus und ihre Ausscheidung 88.
Schwein, Harnasche des 71. 78. — Diazoreaktion beim 1253.
Schwermetallsalze zur Fällung von Eiweiss 1087.
Scyllium, Harnasche 72.
Sebeliensches Reagens 1176.
Sedimente im Harn 19. 121. 122. 129. 133. 1540. — nicht organisierte Sedimente 28. 1540. — Methode der Untersuchung 1541. — Allgemeine Übersicht der nichtorganischen Sedimente 1572. — 1. Harnsäure und Urate s. dort 1032. 1542. — 2. Phosphorsaure Salze s. dort 1549. — 3. Oxalsaurer Kalk s. dort 1554. — 4. Schwefelsaurer Kalk s. dort 1557. — 5. Kohlensaurer Kalk 1559. — 6. Hippursäure 1560. — 7. Cystin 1560. — 8. Xanthin 1561. — 9. Leucin u. Tyrosin 1562. — 10. Heteroalbumose 1564. — 11. Cholesterin 1565. — 12. Fett, Fettsäure und Lipoide 1566. — 13. Pigmente 1568. — Indigblau u. Indigrot 882. 1568. — Bilirubin 1570. — Uroerythrin 1571. — Rubazonsäure 1571. — Organisierte Sedimente 1573. — Untersuchungsmethodik 1573. — 1. Elemente des Blutes 1577. — Erythrocyten 1577. — Leucocyten 1579. — Fibringerinnsel 1580. — 2. Elemente d. Epithelbelags u. der Drüsen 1580. — Epithelien 1580. — Geschwulstpartikel 1582. — Spermatozoen 1582. — Schleimsedimente 1583. — Cylindroide 1584. — Urethralfäden 1585. — 3. Harncylinder 1585. — 4. Harn-Mikroorganismen, Untersuchungsmethodik 1589. — Nichtpathogene Mikroorganismen 1591. — Pathogene Mikroorganismen

Digitized by Google

1593. — Tierische Parasiten 1598. — Harnkonkremente s. Konkremente 1600. — Konservierung der 1574. — — Färbung der 1574. — Dauerpräparate der 1576.
Sedimentum lateritium 1547.
Seifen, Vorkommen im Harn 206. — als Eiweissreagens 1088.
Selachier, Harn der 32. 71.
Seliwanoff, Nachweis der Fruktose nach 438. 441.
Senna, Einfluss auf die Farbe des Harns 1225.
Seo, Bestimmung der Hippursäure 836.
Serinurie 1154.
Serum, Koagulationspunkte 1101.
Serumalbumin 1084. 1097. 1101.
Serumglobulin, Vorkommen 1084. 1097. 1154. — Eigenschaften 1156. — Nachweis 1158.
Shaffer, Bestimmung der β-Oxybuttersäure nach 283.
Siebert, Bestimmung von Quecksilber im Harn 1424.
Siegfried u. Zimmermann, Bestimmung der Phenole 788.
Silber, Vorkommen im Harn 1439.
Skatol 864. — Umwandlungsprodukte 814.
Skatolcarbonsäure 1283.
Skatolglykuronsäure 814.
Skatolrot 814. 885. 890. 891.
Skatolschwefelsäure 814.
Skatoxylglykuronsäure 1283. 1511.
Skatoxylschwefelsäure 1278. 1283.
Smegmabacillen, Nachweis im Harn 1590.
Sörensen-Henriques, Formoltitration d. Aminosäuren nach 643.
Soorpilz, Vorkommen im Harn 30. 1592.
Soxhlet, Bestimmung des Zuckers nach 396.
Sozojodolsäure als Eiweissfällungsmittel 1117.
Spaltpilze, Vorkommen im Harn 1592. — als Gärungserreger 458.
Spargel, Einwirkung auf den Harn 3. 756.
Spektrophotometer nach Vierordt 49. — nach Hüfner 52. — nach Glan 52.
Spektrophotometrie 48. — Hilfsapparate 55. — Anwendung auf den Harn 61.
Spektropolarimeter von Fleischl 39.
Spektrum d. Harns 1284. — Orientierung im 56. — Eichung nach Wellenlängen 57.
Spermatozoen in den Sedimenten 1582.
Spiegler, Reagens auf Eiweiss 1096. 1100. 1118. 1121.
Spiro, Bestimmung des Kohlenstoffs im Harn nach 513. 514. — Nachweis des Glykokolls nach 592.
Sprengel, Pyknometer nach 9.
Sprosspilze, Vorkommen im Harn 30. 1591.
Stadelmann, Bestimmung des Bilirubins 1369.
Stadthagen u. Brieger, Darstellung des Cadaverins 693.
Stalagmometrische Methode 18.
Staphylococcen im Harn 1594. 1596. — Zersetzung der Hippursäure durch 815. 819.
Starkenstein, Nachweis des Inosits nach 477.
Stearinsäure, Vorkommen in Harnsteinen 1604.
Steenbock, Bestimmung der Benzoesäure, Hippursäure u. Phenacetursäure 840.
Steensma, Reaktion auf Eiweiss 1094. — -Schippers, Nachweis von Gallenfarbstoffen 1364.
Steincystin 629.
Stereoisomerie der Zuckerarten 284.
Sterilisierung des Harns 30.
Sterkobilin 1372.
Sternberg, Bestimmung des Acetons nach 249.
Steyrer, Bestimmung des Ammoniaks im Harn nach 530. — des Kohlenstoffs im Harn nach 514.
Stickstoff, der gesamte 189. **479.** — Bestimmung nach Kjeldahl 480 (vgl. Kjeldahl). — azotometrische Bestimmung 488. — Bestimmung durch Formoltitration 489. — Verteilung des Stickstoffs im Harn im allgemeinen 490. — unter besonderen Umständen 496. — Dysoxydabler Harnstickstoff 491. — Methoden zur summarischen Bestimmung der Verteilung des Stickstoffs im Harn 491. — mit Phosphorwolframsäure 491. — nach Pfaundler 492. — nach Krüger u. Schmid 493. — mit Sublimat nach Freund u. Fellner 495. — kolloidaler 1252.
Stickstoffhaltige Säure von Hári 1246.
Stickstoffhaltiges Kohlehydrat 1236.
Stokvis, Nachweis d. Hämatoporphyrins 1338. — Cholecyaninprobe 1357. — reduzierender Stoff aus Gallenfarbstoffen 1354. 1358.

Digitized by Google

Stolba, Bestimmung des Magnesiums nach 172.
Streptokokken im Harn 1594. 1596. — Zersetzung der Hippursäure durch 819.
Struve, Bestimmung d. Jodwasserstoffs 1449. — Nachweis von Hämoglobin im Harn 1225.
Strychnin, Vorkommen im Harn 1494.
Stützsubstanzen 1084.
Sulfanilsäure s. Diazoreaktion 1255.
Sulfonal, Vorkommen, Eigenschaften u. Nachweis im Harn 1463.
Sulfonalharn 1397.
Sulfone, Vorkommen im Harn 101.
Sulfonsäuren, Vorkommen im Harn 101. — aromatische als Eiweissfällungsmittel 1088. 1166.
Sulfosalicylsäure als Eiweissreagens 1088. 1115. 1121. 1176.

Takeda, Basen unbekannter Konstitution 721. — Nachweis des Trimethylamins 713.
Tannin als Eiweissreagens 1087. 1167. 1177. — Einfluss auf die Purinausscheidung 916.
Tanninlösung nach Almèn 1116. 1178.
Tanret, Bestimmung des Eiweisses 1149.
Tanrets Reagens 1119. 1121. — auf Alkaloide im Harn 1484.
Tanretsches Quecksilberreagens 1100. 1176.
Taurinabkömmlinge im Harn 101.
Taurocholsäure 624. 1275. — als Eiweissreagens 1088. 1170.
Taurocholsaures Albumin 1170.
Taurylsäure 778.
Terpentinöl, Einfluss auf den Geruch des Harns 3.
Tetrachloroxykynurin 876.
Tetramethylendiamin s. Putrescin 683. 685.
Tetrathionsäure im Katzenharn 111.
Tetronal, Vorkommen im Harn 1464.
Tetrose 284.
Thallium, Vorkommen im Harn 1440.
Thein, Vorkommen im Harn 1495.
Theobromin, Vorkommen im Harn 908. 920. 931. 1495. — Darstellung 1000.
Theophyllin 920. 931.
Thiele, Uroferrinsäure 1243.
Thiosulfate, Vorkommen 111. 625. — Eigenschaften 111. — Darstellung 112. — Nachweis 112.
Thomas, Nachweis der Milchsäure nach 230.
Thorium-X, Einfluss auf die Purinausscheidung 914. 1005.
Thormählen, Farbstoff, beobachtet von 901.
Thormählensche Probe auf Melaninharn 1315.
Thudichum, Urochrom 1301. — Uromelanin 1309. — Nachweis des Kreatinins nach 667.
Thurmann, Bestimmung der Salpetersäure nach 153.
Thymin 1082 k 1264.
Thyminsäure 1082 n.
Thymohydrochinon, Vorkommen im Harn 1471.
Thymol, Vorkommen im Harn 1471 1512. — Einwirkung auf den Harn 1312.
Thymolglykuronsäure 1517.
Thymonucleinsäure 1082 k, s, t.
Thyresol 1478.
Tollens, Farbenreaktion d. Glykuronsäure 1502. 1521. — Furfuroldestillation zur Bestimmung der Glykuronsäure 1518. — Phloroglucinreaktion auf Pentosen nach 364. — Orcinreaktion auf Pentosen nach 367.
Torpedo, Harnasche 72.
Toxalbumine im Harn 728.
Toxine im Harn 722.
Toxische Substanzen im Harn 18.
Toxischer Koeffizient des Harns 723.
Traubensäure 446.
Traubenzucker vgl. Dextrose.
Trichloressigsäure, Reaktion mit Albumosen 1198. — als Eiweissreagens 1088. 1114. 1121. 1166. 1176.
Trichomonasarten, Vorkommen im Harn 1599.
Trimethylamin, Abspaltung aus Harn 712. — Nachweis nach Takeda 713. — Bestimmung nach de Filippi 714
γ-Trimethyl-n-butyro-betain 718.
Trimethylcarbinol-Glykuronsäure 1505.
1-3-7-Trimethylxanthin 908.
Trinitrophenol, Vorkommen im Harn 1469.
Trional, Vorkommen im Harn 1464.
Triose 284. 345.
Trioxymethylanthrachinon, Verhalten im Organismus 1475.
2-6-8-Trioxypurin 1000.
Tripelphosphat in Sedimenten 1552. — in Konkrementen 1600.
Triticonucleinsäure 1082 p.
Trommersche Probe vgl. Reduktionsvermögen des Harns 297.

Digitized by Google

Trypsin u. Antitrypsin, Vorkommen im Harn 1522. **1530**. — Nachweis der tryptischen u. antitryptischen Wirksamkeit des Harns 1531.
Tryptophan 798. — Übergang in Kynurensäure 869. — Reaktion mit Millons Reagens 1091.
Tryptophanreaktionen s. unter Eiweiss 1092.
Tsuchiya, Bestimmung des Eiweisses 1146.
Tuberkelbacillen, Nachweis im Harn 1589. 1594.
Tuberkulose, Ausscheidung von neutralem Schwefel bei 103.
Tunnicliffe u. Rosenheim, Bestimmung der Harnsäure 1043.
Typhusbacillen im Harn 1595.
Tyrosin, Vorkommen 585. 598. 604. **605**. 1095. — Vorkommen in Sedimenten 1562. 1600. — Eigenschaften 606. — Farbenreaktionen 610. — Physiologisches Verhalten 613. — Nachweis 614. — Beziehung zur β-Oxybuttersäure 238.

v. Udránszky, Huminkörper 1307. 1309. — Nachweis der Kohlehydrate nach 320.
— u. Baumann, Darstellung d. Cadaverins 691. — Bestimmung des Cystins nach 627.
Uffelmannsche Reaktion auf Milchsäure 225. 229.
Unterschweflige Säure, Vorkommen im Harn 69. 101. 111 (vgl. Thiosulfate).
Uracil 1082 m. 1264.
Uramidoantipyrin 1483.
Uramidoglykuronsäure 1498.
Uraminosäure 602.
Uranyl zur Fällung von Eiweiss 1087.
Uranylacetat als Eiweissreagens 1088.
Uratcylinder im Harn 1588.
Urate 1006. 1014. 1115. 1116. 1326. — — als Sedimente 1542. 1584.
Uratsediment, Nachweis v. Gallenfarbstoff im 1366. 1374.
Uratsteine im Harn 1602.
Urein 539.
Urethane 548. 549. 580.
Urethra, Zellen der — i. Sedimenten 1581.
Urethralfäden 1585.
Urian 1306.
Urianin 1306.
Uricase 1032.
Uricedin als harnsäurelösendes Mittel 1035.
Uricooxydase 926. 928. 1004. 1032.
Urobilin, Vorkommen 885. 1283. 1339. 1340. 1346. 1353. 1364. **1370**. 1374. 1548. — Theorien der Entstehungsweise 1377. — Eigenschaften 1379. — α u. β-Urobilin 1380. — Spektrum 2. 61. 1285. 1383. 1398. — Darstellung 1387. — durch Sättigung mit Ammonsulfat 1387. — durch Fällen mit Metallsalzen 1390. — durch Extraktion 1390. — durch Fällen mit Phosphorwolframsäure 1392. — Nachweis 1392. — direkt im Harn 1392. — durch Extraktion des Urobilins 1395. — Bestimmung, spektrophotometrisch 1398. 1404. — nach Fr. Müller 1398. — nach Saillet 1400. nach Tsuchiya 1404. — kolorimetrisch 1401. — gewichtsanalytisch nach Hoppe-Seyler 1402. — durch Verdünnung 1403. — nach Charnass 1411. — Reduktionsvermögen 302. — Fällung durch Magnesiumsulfat 19. — Trennung von Gallenfarbstoffen 1388. — Trennung von Choletelin 1398.—aus Urochrom 1298. 1309. — Trennung vom Hämatoporphyrin 1343. 1381. 1388. 1392. — Diazoreaktion 1349. — Entstehung aus Bilirubin 1350. — Urobilin- und Uromelaninähnliche Körper aus Amylalkohol 1284.
Urobilinweiss 1350. 1405.
Urobilinogen, Vorkommen 1283. 1317. 1370. 1373. **1405**. — Bildung aus Gallenfarbstoffen 1373. — Eigenschaften 1405. — Nachweis 1407. — die Ehrlichsche Reaktion mit Aldehyd 1407. — die eigelbe Diazoreaktion des Harns 1410. — Darstellung 1410. — Bestimmung 1411. — nach Charnass 1411.
Urocaninsäure, Vorkommen 1081. — Eigenschaften 1082. — Darstellung u. Nachweis 1082 b.
Urochloralsäure im Harn 1461. **1462**. 1498. 1505. 1517.
Urochrom, Vorkommen 1243. 1283. **1286**. 1371. 1548. — Menge 1287. — Spektrum 2. 1285. — Ursprung 1288. 1304. 1. Urochrom v. Dombrowski, Eigenschaften 1289. 1304. — Darstellung 1292. — Bestimmung 1293. — 2. Urochrom v. Hohlweg, Eigenschaften 1294. — Darstellung nach Hohlweg-

Digitized by Google

Salomon 1295. — 3. Urochrom von Garrod, Herkunft u. Eigenschaften 1297. — Darstellung nach Garrod 1299. — nach Kramm 1300. — nach Bocchi 1300. — 4. Urochrom nach Thudichum 1301. — 5. Chromoxyproteinsäure von Bocchi u. Ghelfi 1303. — 6. Urochrom von Weisz, Vorkommen u. Bedeutung 1303. — kolorimetrische Bestimmung d. Urochromogens u. Urochroms nach Weisz 1305. — 7. Harnfarbstoff nach Schunk 1306. — 8. Derivate des Urochroms u. Verwandtes 1306. — — a) Uromelanin v. Plosz 1307. — b) Uromelanin v. Dombrowski 1307. — c) Bromuropyrryl, Eigenschaften 1308. — Darstellung 1309. — d) Huminsubstanz v. Udránszky 1309. — — e) Stoffe, die bei der Rosenbachschen Probe entstehen 1310. — f) die präformierte Huminsubstanz nach v. Udránszky 1310. — g) die Carbolharne 1311. — Reduktionsvermögen 302. — Beziehung zur Lösungsfähigkeit d. Harns für Harnsäure 1037. — Beziehung zur Bildung von Uratsediment 1544.
Urochromogen 1303. 1304.
Uroerythrin, Vorkommen 892. 1283. 1326. 1334. 1340. 1374. 1385. 1395. 1548. — Vorkommen in Sedimenten 1571. — Eigenschaften 893. — Spektrum 2. 894. 1285. 1383. — Darstellung 897. — nach Garrod 897. — nach Zoja u. Riva 898. — Nachweis 898.
Uroferrinsäure 1243.
Urofuscohämatin 1283. 1344.
Urogon 778. 783.
Urohämatin 1287. — v. Harley 899.
Urohypertensin 742.
Urohypotensin 728. 733.
Uroleucinsäure 851.
Uromelanin 1298. 1302. 1306. 1308. 1548.
Urometer 4. — nach Lohnstein 5.
Uronitrotoluolsäure 1505. 1515.
Uropittin 1302.
Uroprotsäure 1234.
Uropyrrol 1308.
Uroretin 1306.
Urorosein, Vorkommen 881. 885. 886. 891. 1283. 1301. 1371. 1382. 1385. — Eigenschaften 888. — Darstellung 889. — Nachweis 890.
Urorubin 882.
Urorubrohämatin 1283. 1344.
Urospektrin 1319.
Urostealithen im Harn 207. 1604.
Urotoxie 724.
Urotoxine 722.
Urotoxischer Koeffizient 723.
Urotropin, Vorkommen im Harn 1465. — als harnsäurelösendes Mittel 1035.
Uroxansäure 1025. 1069.
Urrhodin 882.
Urrhodinsäure 851.

Vagina, Zellen in Sedimenten 1581.
Valeriansäure im Harn 198.
Vanillin als Eiweissreagens 1094.
Vanillinglykuronsäure 1515.
Vanillin-Schwefelsäure, Reaktion auf Gallensäuren 1279.
Vegetabilische Nahrung, Einfluss auf die Ätherschwefelsäure 90.
Veraschung des Harns 66. — auf feuchtem Wege 67. 158. 170.
Verbrennungswärme des Harnrückstandes 28.
Verdauungsalbumosen 1194.
Verdauungspepton 1200.
Vernin 1082 s.
Veronal, Vorkommen im Harn 1466.
Verteilungsgesetz zur Bestimmung der Konzentration der Wasserstoffionen 24.
Vielliers u. Fayolle, Bestimmung von Jodwasserstoff 14449.
Violettschwarz als Eiweissfällungsmittel 1089.
Viskosität des Harns 17.
Vitellin 1197.
Vitiatin 702.
Vogelharn 32. 502. 746. 842. — Harnsäure im 1001. — Bestimmung der Harnsäure 1065.
Voisinet, Tryptophanreaktion 1093.
Voit, Nachweis der Lactose nach 457. 459.
Völker, Bestimmung d. Hippursäure 827.
Volhard, Chloridbestimmung nach 76.
Vorbehandlung des Harns mit Merkurinitrat nach Patein u. Dufau 307. 394. 419. 460.
Vournasos, Nachweis der Milchsäure nach 229. 236. — des Acetons nach 250.

Wachscylinder im Harn 1586.
Wage, hydrostatische 6.

Wallace u. Lamont, Bestimmung von Jodwasserstoff 1447.
Wärme, spezifische Wärme des Harns 17.
Wassergehalt, Bestimmung des — des Harns 65.
Wasserstoffionen, Konzentration der — im Harn 21. 23. 24.
Wasserstoffsuperoxyd im Harn 69. 154.
Weidelsche Probe auf Xanthin 938.
Weigertsche Fibrinfärbung 1580.
Weisz, Urochrom nach 1303.
Westphalsche Wage 6.
Weyl, Bestimmung der Salpetersäure nach 152. — Nachweis des Kreatinins nach 666.
Wheeler, Phloroglucinreaktion auf Pentosen nach 364.
Wiechowski, Bestimmung d. Hippursäure 833. — Entfernung d. Ammoniaks aus dem Harn nach 537.
Winternitz, Bestimmung v. Quecksilber im Harn 1419.
Wismut, Vorkommen im Harn 1441.
Wismutproben vgl. Reduktionsvermögen des Harns.
Wismutsubnitrat als Eiweissreagens 1088.
Wöhlk, Nachweis der Lactose nach 459.
Wohlgemuth, Bestimmung der Pentose nach 373. — Nachweis des Arginins nach 640. — Isolierung des Alanins nach 597. 604.
Wolframsäure als Eiweissfällungsmittel 1117.
Wolkow u. Baumann, Darstellung der Homogentisinsäure 858.
Wolter, Bestimmung des Eisens nach 183.
Worm-Müller, Nachweis des Zuckers nach 309.
Wurster, Bestimmung des Ammoniaks im Harn 528.

Xanthin, Vorkommen 908. 918. 920. 965. 1264. — Bildung u. Eigenschaften 966. 1082 h, m. — Darstellung und Nachweis 969. 989 f. — Vorkommen in Sedimenten 1561. — Vorkommen in Konkrementen 1600. 1602. — Trennung von der Harnsäure 993.
Xanthinbasen 496. — Fällung durch Phosphorwolframsäure 876.
Xanthinfraktion, Verarbeitung der 990.
Xanthinoxydase 926.
Xanthinproben 938.
Xanthinsteine im Harn 1603.
Xanthoproteinreaktion 1090. 1177. 1260. 1277.
Xanthosin 1082 f, h, s.
Xanthosinhydrolase 1082 h.
Xylidinreaktion mit Glykuronsäure 1504. — Schiffsche 363.
Xylose-l 359. 438.
Xylosephenylhydrazon 335.
Xylosephenylosazon 335.

Zerfall, fettiger von Geweben als Ursache der Lipurie 205.
Zersetzungen des Harns 28.
Zickgraf, Bestimmung des Eisens nach 182.
Ziege, Harnasche der 71. — Diazoreaktion im Harn der 1253.
Zinksalze zur Fällung von Eiweiss 1087.
Zinksulfat, Aussalzen der Eiweissstoffe durch 1086.
Zoja u. Riva, Darstellung des Uroerythrins 898.
Zucker, Einfluss auf die Oberflächenspannung 18. — Farbenreaktionen des 320. — Nachweis durch Polarisation 352. 418. — Oxydationsprodukte des 302.
Zuckerarten des Harns vgl. Kohlehydrate.
— Reduktion durch vgl. Reduktionsvermögen.
Zuelzer, Chloridbestimmung nach 84.
Zufällige Bestandteile des Harns, anorganische Körper 1414. — organische Körper 1455.
Zweifel, Nachweis der Milchsäure nach 230.
Zymase 458.

OCT 1915

Tafel I.

Digitized by Google

Tafel I.

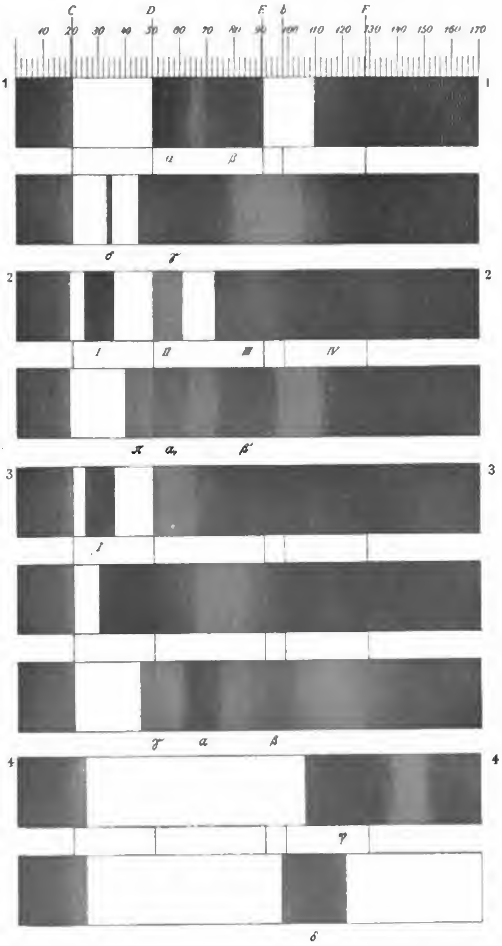
Spectren

1. a. des Sauerstoff-Hämoglobins,
   b. des sauerstofffreien Hämoglobins.
   Vgl. S. 1219.

2. Des Methämoglobins
   a. in neutraler,
   b. in alkalischer Lösung.
   Vgl. S. 1233.

3. a. Des Hämatins in saurer alkoholischer Lösung,
   b. in ammoniakalischer Lösung,
   c. des reduzierten Hämatins.
   Vgl. S. 1317.

4. a. Des Urobilins in saurer Lösung.
   b. des Zinksalzes in ammoniakalischer Lösung.
   Vgl. S. 1383.



Königl Universitätsdruckerei H. Stürtz A G Würzburg. G. W. Kreidels Verlag in Wiesbaden.

Digitized by Google

Tafel II.

Digitized by Google

Tafel II.

Spectren

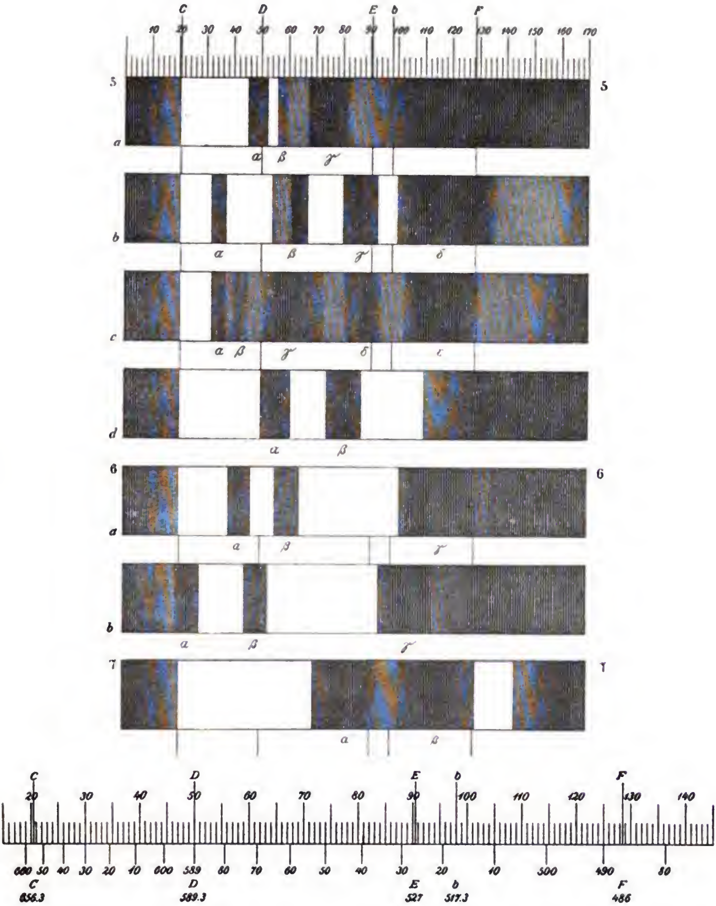
5. des Hämatoporphyrins
   a. saures,
   b. alkalisches vierbandiges,
   c. neutrales,
   d. metallisches Spectrum.
   Vgl. S. 1327.

6. Des Bilicyanins
   a. in saurer.
   b. in alkalischer Lösung.
   Vgl. S. 1352.

7. Des Uroerythrins.
   Vgl. S. 894.

Der Maassstab am Ende der Tafel dient zur Übertragung der Skalenteile, nach welchen die Spektren gezeichnet worden sind, und des Abstands der Fraunhoferschen Linien in Wellenlängen und umgekehrt.

Digitized by Google



Königl. Universitätsdruckerei H. Stürtz A G Würzburg. C.W. Kreidels Verlag in Wiesbaden.

Digitized by Google

Tafel III.

Digitized by Google

Tafel III[1]).

Fig. 1. Harnsäure in Fass- und Wetzsteinformen. Amorphes Urat, oxalsaurer Kalk in Briefkuvertform, Hefezellen (nicht zu verwechseln mit roten Blutkörperchen). (Okul. 4. Obj. 6b. Reichert.)

Fig. 2. Harnsäuredrusen und amorphes Uratsediment.

Fig. 3. Oxalsaurer Kalk grünlichgelb gefärbt aus ikterischem Harn. Oktaeder, Prismen mit pyramidalen Endflächen, ausserdem sphäroide Formen und zwar Scheiben mit grubenförmiger Vertiefung, Hantel- Biskuit- und Sanduhrformen mit radiärer Streifung. Diese Formen kommen gewöhnlich ungefärbt, nur in äusserst seltenen Fällen, wie im vorliegenden Fall, ikterisch gefärbt vor. (Okul. 4. Obj. 8. Reichert.)

Fig. 4. Tripelphosphatkrystalle in Sargdeckel- und Farnkrautwedelformen, ausserdem gelb gefärbtes Ammoniumurat in Form eines Stechapfels, eines Morgensterns, einer Wurzel und in Büscheln. In der Mitte ein Zoogloeahaufen von Mikrococcus ureae in Gestalt eines Cylinders. (Okul. 4. Obj. 6b. Reichert.)

Fig. 5. Phosphorsaurer Kalk, krystallinisch in Fächerform und als amorphe Körnchen. Kohlensaurer Kalk in Form kleiner Kugeln und Dumbbells. (Okul. 4. Obj. 6b. Reichert.)

Fig. 6. Kleine Concremente von Calciumphosphat mit concentr. Schichtung.

---

[1]) Einzelne der selteneren Präparate stammen aus der Sammlung des Herrn Prof. J. Mauthner (Wien).

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.

Königl. Universitätsdruckerei H. Stürtz A. G. Würzburg

C. W. Kreidels Verlag in Wiesbaden

Digitized by Google

Tafel IV.

Digitized by Google

Tafel IV.

Fig. 1. Cystin in hexagonalen Tafeln. Tyrosin in feinsten Nadeln, einfache oder Doppelbüschel. Leucin, braungelbe Kugeln mit radiärer Streifung oder bewimpert und Knollen ohne Struktur. (Okul. 4. Obj. 6b. Reichert.)

Fig. 2. Cholesterin in rhombischen Tafeln mit meist rechtwinkligen Ecken und treppenartigen Einschnitten. (Okul. 4. Obj. 6b. Reichert.)

Fig. 3. a) Hippursäure, Nadeln und Tafeln, dem rhombischen System angehörend. b) Schwefelsaurer Kalk, Nadeln und schmale Tafeln mit schrägabschneidenden Enden in büschel- und garbenförmiger Anordnung. c) Basischphosphorsaure Magnesia nach v. Jaksch. (Okul. 4. Obj. 6b. Reichert.)

Fig. 4. Indigblau, schwarzblaue gewundene Nadeln in Sternfiguren und derbe spiessige Gebilde.. Daneben Ammonurat. (Okul. 4. Obj. 6b. Reichert.)

Fig. 5. Bilirubin (Hämatoidin), ockergelbe Nadeln in Sternform, zum Teil aus einer Zelle auskrystallisierend; kurze rhomboide, leuchtend rotgefärbte Tafeln und amorphes körniges Pigment. (Okul. 4. Obj. 6b. Reichert.)

Fig. 6. Rubazonsäure, zierliche, rot gefärbte Nadeln. (Okul. 4. Obj. 6b. Reichert.)

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

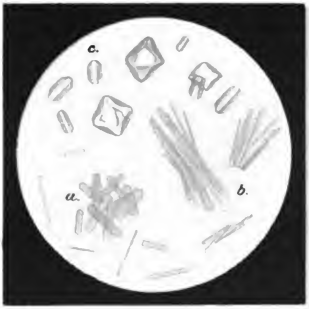


Fig. 4.

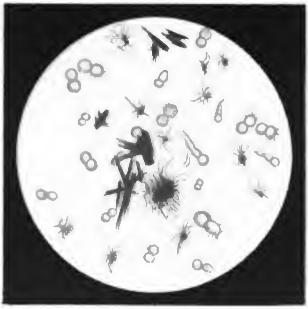


Fig. 5.

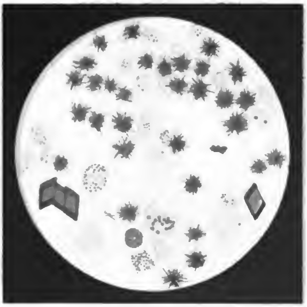
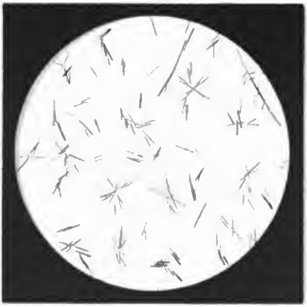


Fig. 6.



Königl. Universitätsdruckerei H. Stürtz A.G. Würzburg

C.W. Kreidel's Verlag in Wiesbaden

Google

Digitized by Google

Tafel V.

Digitized by Google

Tafel V.

Fig. 1. Hyaline Cylinder mit Zellauflagerungen; polygonale Plattenepithelzellen (Nephritis). (Okul. 4. Obj. 6b. Reichert.)

Fig. 2. Leukocyten, zum Teil verfettet oder in Haufen von Fettkügelchen aufgelöst; „geschwänzte Epithelien"; Verband runder Epithelzellen in der Grösse von weissen Blutkörperchen (Cystitis und Pyelitis). (Okul. 4. Obj. 6b. Reichert.)

Fig. 3. Ein hyaliner Cylinder mit Zellauflagerung; ein schmaler hyaliner Cylinder mit Übergang in ein bandförmiges Gebilde (Cylindroid); granulierter Cylinder mit Übergang in ein hyalines Endstück; granulierter Cylinder mit Auflagerungen von Fetttröpfchen und Fettsäuren; Zell-Cylinder mit Zell-Detritus, zum Teil granuliert; Epithelien, kubische, polygonale, cylinderförmige. (Okul. 4. Obj. 6b. Reichert.)

Fig. 4. Erythrocyten-Cylinder; Cylinder mit Blutpigmentschollen; hyaline Cylinder mit aufgelagerten Epithelzellen; Epithelcylinder; rote Blutkörperchen; Zellen mit eingelagertem Blutpigment. (Okul. 4. Obj. 6b. Reichert.)

Fig. 5. Zwei Wachscylinder; zwei Uratcylinder; ein Ikteruscylinder; Epithelzellen im ikterischen Harn. (Okul. Obj. 4 6b. Reichert.)

Fig. 6. Cylindroide (Schleimcylinder), längsgestreift, zum Teil granuliert; Epithelzellen. (Okul. 4. Obj. 6b. Reichert.)

Fig. 1.

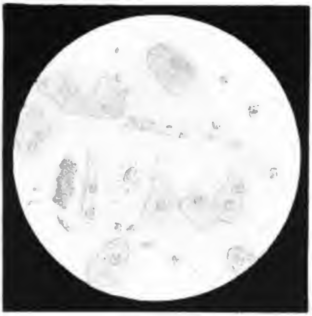


Fig. 2.

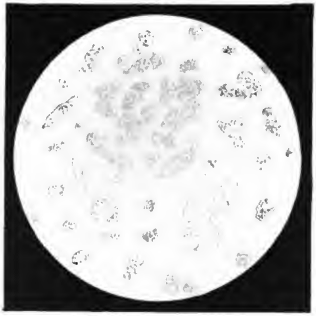


Fig. 3.

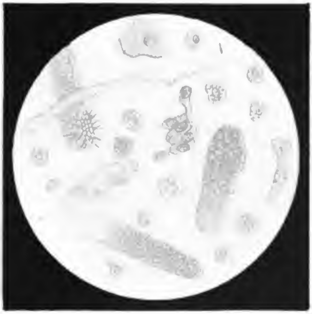


Fig. 4.

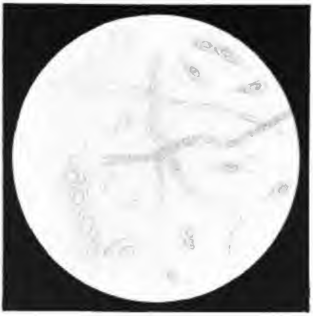


Fig. 5.

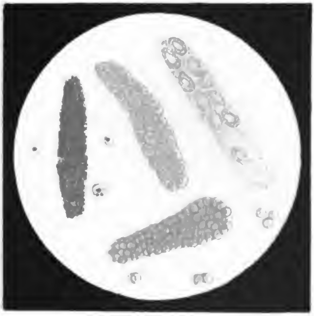


Fig. 6.

H. Stürtz A.G. Würzburg

C.W. Kreidel's Verlag in Wiesbaden

Digitized by Google

Tafel VI.

Digitized by Google

Tafel VI.

Fig. 1. Spermatozoen und Leucocyten in einem Schleimfaden eingebettet. (Okul. 4. Obj. 8. Reichert.)

Fig. 2. Schimmel- und Hefepilze aus Diabetesharn. (Okul. 4. Obj. 8. Reichert).

Fig. 3. Cystitis mit Reinkultur von Bacterium coli, gefärbt mit Löfflers Methylenblau. (Okul. 4. Obj. homog. Öl-Immersion $^1/_{12}$, Apert. 1 . 30. Reichert.)

Fig. 4. Gonokokken im Harnsediment intra- und extracellulär gefärbt mit Löfflers Methylenblau. (Okul. 4. Obj. homog. Ölimmersion $^1/_{12}$, Apert. 1 . 30. Reichert.)

Fig. 5. Tuberkelbacillen im Harnsediment, Stäbchen einzeln, in Häufchen und fragmentiert, gefärbt mit Carbolfuchsin und Alkohol-Methylenblau; Säure- und Alkoholdifferenzierung. (Okul. 4. Obj. homog. Ölimmersion $^1/_{12}$, Apert. 1 . 30. Reichert.)

Fig. 6. Cystitis. Reinkultur von Friedländers Kapselbacillus. Gefärbt mit Anilinwasser-Methylviolett und in Essigsäure differenziert. (Okul. 4. Obj. homog. Ölimmersion. $^1/_{12}$, Apert. 1 . 30. Reichert.)

Digitized by Google

Fig. 1.

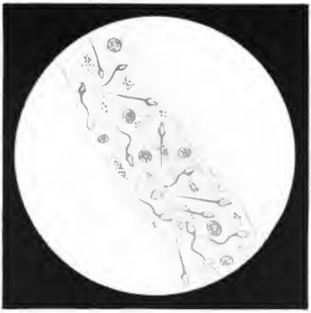


Fig. 2.

Fig. 3.

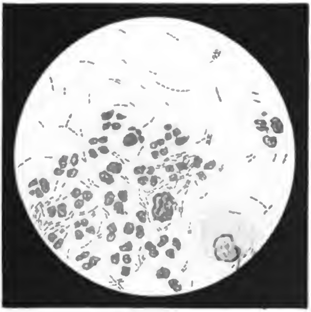


Fig. 4.

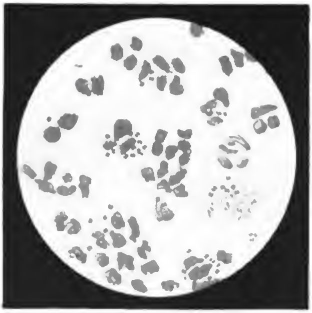


Fig. 5.

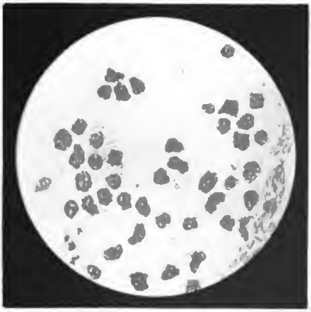


Fig. 6.

Digitized by Google

Verlag von J. F. Bergmann in Wiesbaden.

Handbuch der allgemeinen Pathologie und der pathologischen Anatomie des Kindesalters.

Unter Mitwirkung zahlreicher Fachgenossen

herausgegeben von

H. Brüning, und **E. Schwalbe,**

Rostock. Rostock.

Erster Band. I. Abteilung. Mit 74 Figuren im Text. Mk. 13.60.

Kapitel I. **H. Brüning**, Geschichtliches.
„ II. **E. Schwalbe**, Normale Altersunterschiede und Wachstum im Kindesalter. Allgemeines über Ursachen der Krankheiten im Kindesalter. Analyse der Altersdisposition. Mit 6 Figuren im Text.
„ III. **J. G. Mönckeberg**, Die Pathologie des Gewebes im Kindesalter.
„ IV. **E. Peiper**, Die Parasiten im Kindesalter. Mit 38 Figuren im Text.
„ V. **H. Beitzke**, Die Infektionskrankheiten im Kindesalter. Mit 2 Figuren im Text.
„ VI. **Bruno Wolff**, Allgemeine Missbildungslehre und fetale Erkrankungen.
„ VII. **H. Merkel**, Die Geschwülste des Kindesalters. Mit 24 Figuren im Text.

Zweiter Band. I. Abteilung. Mit 249 Figuren im Text. Mk. 28.—.

Kapitel I. **O. Büttner**, Die durch die Geburt entstandenen Krankheiten.
„ II. **A. Peters**, Die Pathologie und pathologische Anatomie des Auges im Kindesalter.
„ III. **M. Wolters**, Hauterkrankungen im Kindesalter.
„ IV. **E. Wieland**, Spezielle Pathologie des Bewegungsapparates (Stützapparates) im Kindesalter. Mit 62 Abbildungen im Text.
„ V. **E. Thomas**, Drüsen mit innerer Sekretion. Mit 6 Abbildungen im Text.
„ VI. **Guido Fischer**, Die Zähne. Mit 55 Abbildungen im Text.
„ VII. **H. Ribbert**, Respirationsorgane. Mit 30 Abbildungen im Text.
„ VIII. **M. Hohlfeld**, Die Thymus.
„ IX. **W. H. Schultze**, Männliche Geschlechtsorgane. Mit 41 Abbildungen im Text.
„ X. **A. Bennecke**, Weibliche Genitalien.
„ XI. **R. Borrmann**, Harnapparat. Mit 27 Abbildungen im Text.
„ XII. **K. Sternberg**, Darmsystem und Peritoneum.

Das vollständige Werk erscheint in zwei Bänden.

Die beiden Schlussabteilungen erscheinen im Laufe des Jahres 1913.

Digitized by Google

Verlag von J. F. Bergmann in Wiesbaden.

Handbuch
der
Radium-Biologie u. -Therapie
einschliesslich der anderen
Radioaktiven Elemente.

Ein Handbuch für Ärzte und Biologen

unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. F. Bashford-London, Prof. Dr. Jean Becquerel-Paris. Prof. Dr. Paul Becquerel-Paris, Prof. Dr. A. Bickel-Berlin, Geh. Rat Prof. Dr. Brieger-Berlin, Dr. Caan-Heidelberg, Wirkl. Geh. Rat Prof. Dr. Czerny-Heidelberg. Dr. F. Dautwitz-Joachimstal, Prof. Dr. Degrais-Paris, Dozent Dr. Falta-Wien, Oberarzt Dr. Fürstenberg-Berlin, Geh. Rat Prof. Dr. Greeff-Berlin, Prof. Dr. O. Hahn-Berlin, Geh. Rat Prof. Dr. O. Hertwig-Berlin, Prof. Dr. C. Kaiserling-Berlin, Geh. Rat Prof. Dr. Fr. Kraus-Berlin, Prof. Dr. A. Laborde-Paris, Prof. Dr. P. Lazarus-Berlin, Prof. Dr. H. Mache-Wien, Dr. L. Matout-Paris, Prof. Dr. St. Meyer-Wien. Prof. Dr. C. Neuberg-Berlin, Hofrat Prof. Dr. v. Noorden-Wien, Geh. Rat Prof. Dr. Pfeiffer-Breslau, Oberarzt Dr. Plesch-Berlin, Dozent Dr. Prausnitz-Breslau, Prof. Dr. E. Schiff-Wien, Prof. Dr. E. Sommer-Zürich, Prof. Dr. J. Strasburger-Breslau, Dr. Szilard-Paris, Prof. Dr. Wickham-Paris

herausgegeben von

Prof. Dr. **Paul Lazarus** (Berlin).

Mit 153 Abbildungen und 2 Tafeln.

Preis Mk. 22.65, gebunden Mk. 24.—.

Aus Besprechungen:

Es ist ein hervorragendes Werk, welches durch Zusammenarbeit mit bekannten Forschern von Lazarus herausgegeben worden ist; das Handbuch ist z. Z. das ausführlichste und gründlichste Buch über die Radiumbiologie und -Therapie. *Zeitschr. f. Röntgenkunde.*

So war es bei der Fülle des schon jetzt vorliegenden Stoffes doch sicherlich am Platze, das gesamte vorhandene Material in einem Handbuch der Radium-Biologie und der Radium-Therapie zu vereinigen. Wir glauben, dass der Herausgeber dieses ersten, die ganze Materie und ihre Grenzgebiete weit umfassenden Handbuches sich ein dauerndes Verdienst erworben hat. Die einzelnen Kapitel des Werkes sind von solchen Autoren bearbeitet, worden, welche sich speziell und eingehend mit der betreffenden Frage beschäftigt haben. Die Namen bürgen für die Vorzüglichkeit des Gebotenen. *Zentralblatt für Röntgenstrahlen.*

Das Werk ist, wie das hier behandelte Wissenschaftsgebiet selbst, in wahrstem Sinne des Wortes international und ist auch, der Hauptforderung eines Handbuches entsprechend, nahezu vollständig. Dank der objektiven Darstellung zeigt das Werk auch, wieviel Unklarheit noch auf dem Gebiete von Radium-Biologie und -Therapie herrscht. *Prager Mediz. Wochenschrift.*

Digitized by Google

Verlag von J. F. Bergmann in Wiesbaden.

Physikalisch-chemische Untersuchungen

über

PHAGOZYTEN.

Ihre Bedeutung von allgemein biologischem und pathologischem Gesichtspunkt.

Von

Dr. chem. et med. **H. J. Hamburger,**

Professor der Physiologie an der Reichsuniversität Groningen.

Mit 4 Abbildungen im Text.

Preis Mk. 9.—, gebunden Mk. 10.20.

I. Methodik.
II. Wasserzusatz.
III. Wasserentziehung.
IV. In welcher Weise wirken anisotonische Lösungen hemmend auf die Phagozytose, in negativ inotroper oder chronotroper?
V. Ist eine reine NaCl-Lösung ein Gift für die Phagozyten?
VI. Einfluss von Anionen, speziell von Halogenionen auf die Phagozytose.
VII. Anderweitige Anionen.
VIII. Verschiedenartige Kationen.
IX. Weiteres über das Calcium.
X. Einfluss anderweitiger Substanzen auf die Phagozytose.
XI. Einfluss von Jodoform auf die Phagozytose.
XII. Einfluss anderer lipoidlöslicher Substanzen auf die Phagozytose.
XIII. Inwieweit offenbaren sich die sub XI und XII an Phagozyten beobachteten Erscheinungen auch bei anderen Zellen.
XIV. Experimente über die Rolle des Teilungsgesetzes.
XV. Die günstige Wirkung von Calcium bei Schädigung von Zellen durch Chloroform.
XVI. Rückblick.
Sachregister.

Die deutsche Literatur erfährt mithin in diesem Werke eine willkommene Bereicherung und eine bedeutsame insofern, als für die Lehre von der Phagozytose hier ein gar umfangreiches Material aus experimentellen Ergebnissen aufgeführt wird. Es sei auch hier gleich vorweggenommen, dass die Art, wie dieses Material dargestellt wurde, alle Anerkennung verdient. Die Anordnung lässt nichts an Übersichtlichkeit zu wünschen übrig; die Versuche sind mit grösster Knappheit beschrieben, die Ergebnisse am Ende jeder Versuchsreihe zusammengefasst. Für alle mit zellbiologischen Fragen, mit allgemeinphysiologischen und -pathologischen, pharmakologischen Studien beschäftigten Forscher wird dieses Buch nicht nur zu einer unentbehrlichen Quelle, sondern zu einem mit Vergnügen gelesenen Werke werden.

Zentralbl. f. Biochemie und Biophysik.

Digitized by Google

Verlag von J. F. Bergmann in Wiesbaden.

Lehrbuch

der

Mikrochemie.

Von

Friedrich Emich,
o. Professor der Chemie an der techn. Hochschule Graz.

Mit 30 Textabbildungen.

Preis geh. Mk. 6.65, geb. Mk. 7.85.

Aus Besprechungen:

Die Herausgabe des Emichschen Lehrbuches ist sehr willkommen zu heissen. Gerade weil die Mikrochemie noch im Anfang ihrer Entwicklung begriffen ist und zunächst noch viele Mitarbeiter an sich zu ziehen hat, ist ein Lehrbuch wie das Emichsche nicht warm genug zu empfehlen. Ohne auf Einzelheiten einzugehen, sei hier mitgeteilt, dass Emich sein Lehrbuch sehr breit und allgemein gehalten hat, und nicht nur seine eigenen, sondern alle Arbeiten, die die heutige Literatur aufweist, berücksichtigt hat. In dieser Hinsicht unterscheidet es sich sehr vorteilhaft von der Behrensschen Anleitung. Die knappe, gedrängte Form des Emichschen Lehrbuches ist besonders da vorzüglich brauchbar, wo den mikrochemischen Praktikanten Anleitung bei der Arbeit gegeben wird, und wird durch seine Fülle von Literaturangaben jedem von Nutzen sein, der sich mit der Mikrochemie näher beschäftigen will. *Schoorl i. d. Chemiker-Zeitung.*

Das vorliegende interessante Werk enthält eine zusammenfassende Darstellung jener interessanten Untersuchungen, die sich auf die Erkennung und Bestimmung minimaler Stoffmengen beziehen. . . .

. . . . Neben der Wichtigkeit dieser Methode für jeden, also auch für den Kolloidchemiker, hat der letztere noch ein ganz besonderes Interesse für die methodische Mikrochemie. Dies beruht auf der Tatsache, dass eine ganze Anzahl nicht nur der empfindlichsten analytischen Reaktionen überhaupt, sondern insbesondere auch eine Anzahl mikrochemischer Methoden auf Kolloiderscheinungen beruhen. . . .

. . . . Das mit zahlreichen Abbildungen und einer Fülle von lehrreichen und praktischen Anmerkungen, Hinweisen usw. versehene Buch sei wärmstens empfohlen, um so mehr, als der Verfasser zweifellos zu den allerbesten Kennern des Gebietes gehört.

Zeitschrift für Chemie und Industrie der Kolloide.

Digitized by Google

Verlag von J. F. Bergmann in Wiesbaden.

Spezielle Diagnostik und Therapie

in kurzer Darstellung mit Berücksichtigung aller Zweige der praktischen Medizin.

Bearbeitet von zahlreichen Fachgenossen

und

herausgegeben von

Stabsarzt Dr. **Walter Guttmann**

in Mülheim-Ruhr.

Preis geb. Mk. 10.65.

Es ist gewiss ein Wagnis, das gesamte Gebiet der praktischen Medizin, diesen gewaltigen Stoff, auf dem engen Raum des vorliegenden Kompendiums von 657 Seiten zur Darstellung zu bringen. Wenn man auch von vornherein keine Vollständigkeit in dem Sinne erwarten darf, dass alle möglichen Einzelheiten und Abweichungen vom Typus berücksichtigt sind, so müssen doch ganz besonders Bedingungen obwalten, dass der Wurf gelungen ist. In der Tat haben die Verfasser der einzelnen Abschnitte es verstanden, sie mit möglichster Prägnanz des Ausdrucks abzufassen. Die wesentlichsten Gesichtspunkte sind kurz und klar dargelegt und dabei ist besonders Gewicht auf die Differentialdiagnose gelegt. In der Therapie sind nur solche Heilverfahren erwähnt, welche auf Grund eigener Erfahrungen und Kritik der Verfasser empfehlenswert erscheinen. Aus allen diesen Gründen dürfte das vorliegende Buch zur ersten Information des Arztes in der allgemeinen Praxis, sowie des Studierenden nicht nur ausreichen, sondern vorzüglich geeignet sein.

v. Boltenstern-Berlin i. d. Deutschen Ärzte-Zeitung.

Unter Mitarbeit einer Anzahl von Spezialfachmännern bewältigt dieses Buch auf 657 Seiten das gesamte Gebiet der speziellen Pathologie in Form ganz kurzer lexikographisch geordneter Notizen. Stichproben lassen erkennen, dass in der Tat der praktische Arzt sich über jedwede Krankheit schnell unterrichten kann. Ein Anhang bringt die üblichsten Rezepturen, Maximaldosen- und Nährwerttabellen und dergl. mehr. *Berliner Klinische Wochenschrift.*

Als Nachschlagewerk, zur raschen Orientierung verwendet, wird es diesen Zweck vollständig erfüllen und bietet demjenigen, dem eine grössere Bibliothek nicht zur Verfügung steht, über die wichtigsten medizinischen Fragen Aufschluss. In diesem Sinne kann es bestens empfohlen werden.

Prager med. Wochenschrift.

Digitized by Google

Verlag von J. F. Bergmann in Wiesbaden.

Physiologische Chemie

von

Professor Dr. **Olof Hammarsten**, Upsala.

Siebente, völlig umgearbeitete Auflage.

Preis Mk. 23.—. Gebunden Mk. 25.40.

Die schnelle Aufeinanderfolge der einzelnen Auflagen — der 6. Auflage folgt nach Verlauf von kaum $2^1/_2$ Jahren nunmehr die siebente — ist das beste Zeichen, wie grosser Wertschätzung sich das Hammarstensche Lehrbuch allgemein erfreut. Man kann aber auch wohl sagen, dass kein anderes in so übersichtlicher und so klarer, leicht verständlicher Form die mitunter recht schwierige Materie behandelt wie dieses. *Berliner klin. Wochenschrift.*

Die 7. Auflage des altbekannten Lehrbuches hat wesentliche Umänderungen erfahren. Allenthalben sind die notwendigen Ergänzungen nach dem Stande der neuesten Literatur eingehend vorgenommen. Es wurde aber auch ein neues Kapitel „Physikalische Chemie in der Biologie", das Prof. S. H. Hedin in Upsala vorzüglich bearbeitete, eingefügt. Das Lehrbuch ist schon lange allgemein als erstklassiges Werk anerkannt und seine Neuauflage wird ohne Zweifel durchweg mit Freude begrüsst werden.

Zentralbl. f. d. ges. Physiol. d. Stoffw.

Leitfaden der

Vaccinationslehre.

Von

Dr. Karl Süpfle.

Professor für Hygiene und Bakteriologie an der Universität München.

Mit 12 Tafeln.

Preis Mk. 5.60, gebunden Mk. 6.60.

Durch vorliegendes Werk hat die Literatur über die Schutzpockenimpfung eine wesentliche Bereicherung erfahren. . . . . . Und wird der Arzt und der Studierende gerade im vorliegenden Werk auf eine Fülle von theoretischen und praktischen Fragen stossen, die erst in den letzten Jahren aktuell geworden sind; es sei hier einerseits an die Entdeckung der Volpinoschen beweglichen Körperchen, der Prowazekschen Initialkörper und der Guarnierischen Vaccinekörperchen, andererseits an praktische Neuerungen, wie an den Paulschen Tegminverband, der eine nahezu keimfreie Gewinnung der Lymphe gewährleistet, erinnert.

Verf. hat hier seine Aufgabe, durch sein Werk die Mitarbeit der ärztlichen Kreise auf dem so wichtigen und aussichtsreichen Gebiet der Schutzpockenimpfung von neuem anzufachen, glänzend gelöst. Dank der ausserordentlich klaren und übersichtlichen Darstellung des Stoffes, des flotten Stils und nicht zuletzt der famosen Tafeln und Abbildungen gebührt dem Buch in der Literatur der Schutzpockenimpfung der erste Platz. *Zentralblatt für Bakteriologie.*

Digitized by Google

Verlag von J. F. Bergmann in Wiesbaden.

Die Viskosität des menschlichen Blutes.

Von

Privatdozent **Dr. Determann** in Freiburg.

Mit 9 Abbildungen im Text.

Preis Mark 2.80.

.... Der Vielseitigkeit dieser Beziehungen entsprechend war bislang die Literatur dieses Gebietes sehr verstreut und dem praktischen Arzt nur schwer zugänglich. Es ist daher eine verdienstvolle Arbeit zu nennen, dass D., gestützt auf ein reiches Mass eigener experimenteller Arbeiten, es unternommen hat, eine zusammenfassende „Darstellung unserer augenblicklichen Kenntnisse über die Viskosität des Blutes und ihrer Beziehungen zu den verschiedenen Funktionen des Organismus" zu geben.

Die Monographie ist äusserst klar geschrieben und übersichtlich angelegt. Besondere Hervorhebung aber verdient die strenge sachliche Kritik, die den Autor in gleich glücklicher Weise befähigt, in noch offenen Fragen die sich entgegenstehenden Ansichten der Forscher gegeneinander abzuwägen, wie auch bei scheinbar abgeschlossenen Fragen bislang versteckt gebliebene Schwierigkeiten oder Mängel aufzudecken .... *Münchener med. Wochenschrift.*

Ernährung und Stoffwechsel.

In ihren Grundzügen dargestellt

von **Dr. Graham Lusk,**

Professor der Physiologie an der Cornell-Universität in New-York.

Zweite, erweiterte Auflage.

Ins Deutsche übertragen und herausgegeben

von

Dr. Leo Hess, Wien.

Mit einem Vorwort von Prof. Dr. M. Rubner.

Preis Mk. 7.—, gebunden Mk. 8.—.

... Es ist durchaus modern geschrieben, indem selbst die neuesten Errungenschaften auf dem Gebiete der Physiologie und Pathologie des Stoffwechsels aufgenommen wurden. Im wesentlichen lehnt es sich an die Lehren Rubners und C. v. Voits an, welch letzterem auch dieses Buch gewidmet wurde. Wenn man bedenkt, wie oft Darstellungen, die reichlich mit Tabellen und Zahlen untermengt sind, auf den Leser ermüdend wirken können, so bildet dieses Buch in dieser Beziehung eine seltene Ausnahme. Dass speziell uns deutschen Lesern dies angenehm auffällt, ist sicher ein Verdienst, das dem Übersetzer Dr. Leo Hess zugeschrieben werden muss.

Wiener klinische Rundschau.

Digitized by Google

Chemie und Biochemie
der
Lipoide.

Von Professor Dr. **Ivar Bang** in Lund.

Preis Mk. 6.65, gebunden Mk. 7.85.

Die Lipoide, die „fettähnlichen" Stoffe der Zelle haben allmählich eine solche Bedeutung erlangt, dass eine grössere Darstellung über dieselben sehr natürlich ist. Der durch seine Originalarbeiten auf diesem Gebiete sehr erfahrene Autor gibt zunächst eine eingehende chemische Beschreibung der einzelnen Lipoidstoffe. Darauf folgt eine Darstellung der Bedeutung der Lipoide, in der Ernährung, in der Fermentlehre, in der Immunitätslehre und im Haushalt der lebendigen Zelle Der Autor versteht in eindringlicher Weise klar zu machen, dass die Lipoide in den grossen Problemen der physiologischen und pathologischen Chemie nicht minder beobachtet werden müssen, wie die bisherigen zu ausschliesslich bevorzugten Eiweisskörper.

Korrespondenzblatt für Schweizer Ärzte.

Jahresbericht
über die
Fortschritte der Tierchemie
oder der
Physiologischen und pathologischen Chemie.

Begründet von **Richard Maly.**

Fortgesetzt von

R. Andreasch. M. v. Nencki †. K. Spiro.

XLI. Band: Über das Jahr 1911.

Unter Mitwirkung von Fachgenossen
herausgegeben und redigiert von

Prof. **Rud. Andreasch** in Graz und Prof. Dr. **Karl Spiro** in Strassburg.

Preis Mk. 45.—.

Inhaltsübersicht.

I. Eiweissstoffe und verwandte Körper. — II. Fette, Fettbildung und Fettresorption. — III Kohlehydrate. — IV. Verschiedene Körper. — V. Blut. — VI. Milch. — VII. Harn und Schweiss. — VIII. Verdauung. — IX. Leber und Galle. — X. Knochen und Knorpel. — XI. Muskeln und Nerven. — XII. Verschiedene Organe. — XIII. Niedere Tiere. — XIV. Oxydation und Respiration. — XV. Gesamtstoffwechsel. — XVI. Landwirtschaftliches. — XVII. Pathologische Chemie. — XVIII. Pflanzenphysiologie. — XIX. Enzyme, Fermentorganismen. Fäulnis, Desinfektion. — XX. Pharmakologie. — XXI. Infektion, natürliche und künstliche Immunität, antigene Körper (Toxine etc.) und Antikörper (Heilsera etc.

Digitized by Google

UNIVERSITY OF MICHIGAN
3 9015 07681 2703

Digitized by Google